

Citation for published version:

Coma, M 2007, 'TECNOLOGIA SBR: APLICACIÓ AL TRACTAMENT BIOLÒGIC DE MATÈRIA ORGÀNICA, NITROGEN I FÒSFOR', Universitat de Girona.

Publication date:
2007

[Link to publication](#)

University of Bath

Alternative formats

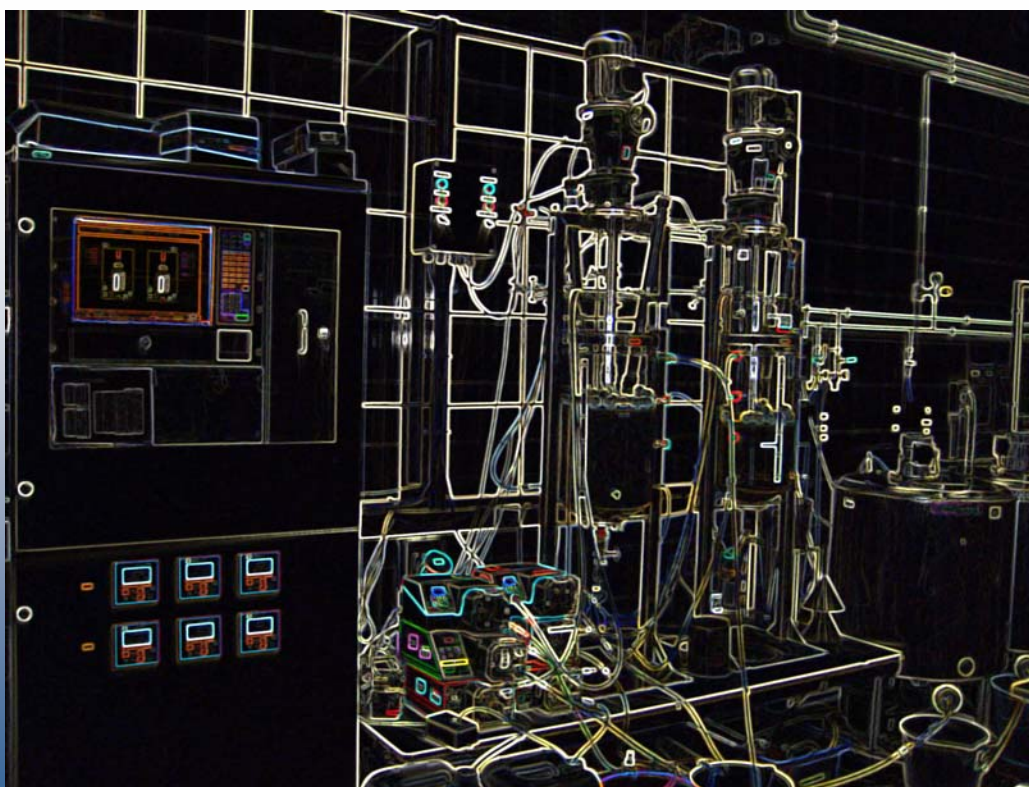
If you require this document in an alternative format, please contact:
openaccess@bath.ac.uk

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.



TECNOLOGIA SBR:

APLICACIÓ AL TRACTAMENT BIOLÒGIC DE

MATÈRIA ORGÀNICA, NITROGEN I FÒSFOR



MARTA COMA BECH

Maig 2007



MARIA DOLORS BALAGUER CONDOM i JESÚS COLPRIM GALCERAN, professors del Departament d'Enginyeria Química, Agroalimentària de la Universitat de Girona

CERTIFIQUEN

Que la llicenciada Marta Coma Bech ha dut a terme, sota la seva direcció, el treball, amb el títol *Tecnologia SBR: Aplicació al tractament biològic de Matèria Orgànica, Nitrogen i Fòsfor*, presenta en aquesta memòria, la qual constitueix el treball de recerca per optar al Diploma d'Estudis Avançats per la Universitat de Girona.

I perquè en prengueu coneixement i tingui els efectes que correspongui, presentem davant la Facultat de Ciències de la Universitat de Girona l'esmentat treball de recerca, signant aquesta certificació a

Girona, 31 de Maig del 2007

Maria Dolors Balaguer Condom

Jesús Colprim Galceran

AGRAÏMENTS

“Segons la teoria dels instants previs, sempre és millor el que està a punt de passar que el que acaba passant. (...) Amb els articles passa el mateix. El millor és quan encara no l'has llegit. Quan tens el croissant a punt, el cafè amb llet fumejant, el diari encara per estrenar i et disposes a començar-lo per la contraportada, a veure què diu aquest avui. Per això és tan difícil que els articles i, al capdavant, la vida estigui a l'alçada de les nombroses, i a vegades injustificades, expectatives que desperten els instants previs.”

Albert Om (2006)

Segurament, per a molts dels que tinguin aquest document a les mans, la teoria dels instants previs els quedarà com anell al dit. És difícil satisfer les expectatives de tot lector, i més encara si és un lector expert en el tema, però el treball intenta ser un reflex de tota la feina feta, la qual, no l'hauria pogut dur a terme sense l'ajuda i el suport dels que m'envolten.

Primer de tot m'agradaria agrair l'oportunitat que els meus directors, la Marilós i en Jesús, em van donar quan em van oferir entrar a formar part del projecte, així com també els hi he de donar les gràcies per la confiança que han dipositat en mi durant aquest dos anys i per la que em donaran els pròxims anys, o això espero!

Quan vaig començar al LEQUIA - UdG no sabia que m'esperava una gran família a la qual els he d'agraciar molt. Als homes del BNR, que em cuiden tant, *que us quedi clar* que sense vosaltres no me n'hagués sortit, al vostre costat he après moltes coses de la recerca, però també del treball en equip i de la vida. A les “jefas” del laboratori, per ajudar-me en tots els experiments i per canviar-me la mirada. Als de Carbó, als de Conca i als de Benchmark per compartir els cafès, els dinars, els sopars, els “pitis” i tot el que faci falta! En definitiva, gràcies a tots per ajudar-me a retrobar vells amics, fer-ne de nous i ensenyar-me a viure!

En el terreny més personal he d'agraciar el suport que la Carme, en Joan, en Pep i la Paqui (els meus pares) m'han donat en aquesta nova fita, tot i que la majoria de vegades no han entès molt bé de què els parlo ni què faig tantes hores fora de casa... Aquest treball també el dedico als meus germans: en Jordi, en Martí, en Ferran i en Josep, els quals, tots a la seva manera, s'han preocupat per saber com m'anava la “resina o la texina”...

Finalment, un gràcies ben gros a les nenes, l'Anna i l'Èrika, per aguantar el meu “monotema” aquests últims mesos, per escoltar-me i acompanyar-me a on faci falta i per tot el que vindrà.

GRÀCIES A TOTS!

ÍNDEX DE CONTINGUTS

| | | |
|----------|---|-----------|
| 1 | INTRODUCCIÓ | 1 |
| 1.1 | LES AIGÜES RESIDUALS I LA PROBLEMÀTICA DELS NUTRIENTS | 1 |
| 1.2 | TRACTAMENT DE FANGS ACTIVATS | 2 |
| 1.2.1 | ELIMINACIÓ BIOLÒGICA DE MATÈRIA ORGÀNICA | 3 |
| 1.2.2 | ELIMINACIÓ BIOLÒGICA DE NITROGEN: NITRIFICACIÓ I DESNITRIFICACIÓ | 4 |
| 1.2.3 | ELIMINACIÓ BIOLÒGICA DE FÒSFOR | 5 |
| 1.3 | TECNOLOGIA SBR | 6 |
| 1.3.1 | CARACTERÍSTIQUES D'OPERACIÓ DE LA TECNOLOGIA SBR | 7 |
| 1.3.2 | ESTRATÈGIES D'ALIMENTACIÓ D'UN SBR | 8 |
| 1.3.3 | PARÀMETRES D'OPERACIÓ DE LA TECNOLOGIA SBR | 9 |
| 2 | OBJECTIUS | 11 |
| 3 | MATERIALS I MÈTODES | 12 |
| 3.1 | PLANTA PILOT | 12 |
| 3.1.1 | REACTOR I TANC D'ALIMENTACIÓ | 12 |
| 3.1.2 | SISTEMA DE MONITORITZACIÓ I CONTROL | 13 |
| 3.1.3 | CONDICIONS D'OPERACIÓ | 14 |
| 3.1.4 | ALIMENT | 15 |
| 3.2 | MÈTODES ANALÍTICS | 16 |
| 3.2.1 | DETERMINACIÓ DELS SÒLIDS EN SUSPENSÍO TOTALS (SST) | 16 |
| 3.2.2 | DETERMINACIÓ DELS SÒLIDS EN SUSPENSÍO VOLÀTILS (SSV) | 17 |
| 3.2.3 | DETERMINACIÓ DE LA DEMANDA QUÍMICA D'OXIGEN (DQO) | 17 |
| 3.2.4 | DETERMINACIÓ DE LA DEMANDA BIOQUÍMICA D'OXIGEN (DBO) | 19 |
| 3.2.5 | DETERMINACIÓ DE LA CONCENTRACIÓ D'AMONI (NH_4^+) | 21 |
| 3.2.6 | DETERMINACIÓ DEL NITROGEN KJELDAHL TOTAL (TKN) | 22 |
| 3.2.7 | DETERMINACIÓ DEL NITROGEN ORGÀNIC I DEL NITROGEN TOTAL | 23 |
| 3.2.8 | DETERMINACIÓ DE LA CONCENTRACIÓ DE NITRITS I NITRATS (NO_2^- I NO_3^-) I FOSFATS (PO_4^{3-}) | 23 |
| 3.2.9 | DETERMINACIÓ DEL FÒSFOR TOTAL (PT) | 25 |
| 3.2.10 | DETERMINACIÓ DEL CARBONI ORGÀNIC TOTAL (TOC) | 26 |
| 3.2.11 | DETERMINACIÓ DE L'ALCALINITAT | 27 |
| 3.3 | TÈCNIQUES MICROBIOLÒGIQUES (FISH) | 28 |

| | | |
|----------|---|-----------|
| 3.3.1 | FIXACIÓ DE LA MOSTRA | 29 |
| 3.3.2 | HIBRIDACIÓ DE LA MOSTRA | 29 |
| 3.3.3 | VISUALITZACIÓ I QUANTIFICACIÓ DE LES MOSTRES | 30 |
| 3.4 | METODOLOGIA | 31 |
| 3.4.1 | ASSAIG DE L'EVOLUCIÓ D'ESPÈCIES QUÍMIQUES DEL CICLE DE TREBALL DE L'SBR | 32 |
| 3.4.2 | ASSAIG EN BATCH PER A L'ESTUDI DE POBLACIONS PAO / DPAO | 32 |
| 4 | RESULTATS | 34 |
| 4.1 | ELIMINACIÓ DE C, N I P MITJANÇANT LA TECNOLOGIA SBR | 34 |
| 4.1.1 | PERÍODE 1 | 35 |
| 4.1.2 | PERÍODE 2 | 37 |
| 4.1.3 | PERÍODE 3 | 39 |
| 4.1.3.1 | Període 3a | 39 |
| 4.1.3.2 | Període 3b | 41 |
| 4.1.3.3 | Període 3c | 49 |
| 4.2 | DESENVOLUPAMENT DEL FANG GRANULAR | 57 |
| 4.2.1 | DISMINUCIÓ TEMPS DE SEDIMENTACIÓ | 59 |
| 5 | CONCLUSIONS | 63 |
| 6 | REFERÈNCIES | 65 |

ÍNDEX DE TAULES

INTRODUCCIÓ

| | |
|--|---|
| Taula 1.1. Requeriments per descàrregues d'aigües residuals urbanes segons la Directiva Europea 91/271/CEE | 2 |
| Taula 1.2. Principals paràmetres operacionals de la tecnologia SBR | 9 |

MATERIALS I MÈTODES

| | |
|--|----|
| Taula 3.1. Condicions generals d'operació de la planta pilot SBR | 14 |
| Taula 3.2. Concentracions mitjanes de l'influent de la planta pilot SBR | 16 |
| Taula 3.3. Planificació de mostreig en estudis d'evolució d'espècies analítiques del cicle de treball de l'SBR | 32 |

RESULTATS

| | |
|---|----|
| Taula 4.1. Condicions mitjanes d'operació de l'SBR durant els diferents períodes de treball amb fangs actius. | 34 |
| Taula 4.2. Càrregues i concentracions mitjanes de matèria orgànica, nitrogen i fòsfor aplicades durant el període 1 | 35 |
| Taula 4.3. Càrregues i concentracions mitjanes de matèria orgànica, nitrogen i fòsfor aplicades durant el període 2 | 37 |
| Taula 4.4. Càrregues i concentracions mitjanes de matèria orgànica, nitrogen i fòsfor aplicades durant el període 3 | 39 |
| Taula 4.5. Velocitats específiques de captació de fòsfor en fase aeròbia i anòxica | 47 |
| Taula 4.6. Percentatges d'espècies microbiològiques per a l'eliminació del fòsfor i el nitrogen | 48 |
| Taula 4.7. Mitjanes dels resultats analítics i microbiològics des del dia 600 fins al final de l'estudi | 54 |
| Taula 4.8. Paràmetres experimentals de l'eliminació biològica del fòsfor amb etanol | 56 |
| Taula 4.9. Condicions mitjanes d'operació de l'SBR durant el període de treball amb fang granular | 58 |

ÍNDEX DE FIGURES

INTRODUCCIÓ

| | |
|---|---|
| Figura 1.1. Esquema bàsic del tractament d'aigües residuals amb fangs actius. | 2 |
| Figura 1.2. Esquema metabòlic dels PAOs en fase anaeròbia (esquerra) i en fase aeròbia (dreta). | 5 |
| Figura 1.3. Comparació del sistema convencional de fangs actius amb la tecnologia SBR. | 6 |
| Figura 1.4. Esquema bàsic de les seqüències de fases d'un cicle en un SBR. | 7 |

MATERIALS I MÈTODES

| | |
|--|----|
| Figura 3.1. Fotografia i diagrama de procés de la planta pilot SBR. | 12 |
| Figura 3.2. Interfície del programa de control dels SBR i representació <i>in situ</i> de les variables on-line. | 13 |
| Figura 3.3. Cicle general d'operació per a l'eliminació de matèria orgànica i nutrients aplicant una estratègia step-feed en un SBR. | 15 |
| Figura 3.4. Cromatograma d'una mostra patró del cromatògraf iònic. | 24 |

RESULTATS

| | |
|---|----|
| Figura 4.1. Configuració del cicle de treball de l'SBR durant el primer període d'estudi. | 35 |
| Figura 4.2. Evolució de la matèria orgànica en forma de DQO(A), del nitrogen en forma de nitrogen total (N_{TOT}), amoni (NH_4^+) i nitrat (NO_3^-) (B) i del fòsfor en forma de fosfats (C) durant el període 1. | 36 |
| Figura 4.3. Evolució de la matèria orgànica en forma de DQO(A), del nitrogen en forma de nitrogen total (N_{TOT}), amoni (NH_4^+) i nitrat (NO_3^-) (B) i del fòsfor en forma de fosfats (C) durant el període 2. | 38 |
| Figura 4.4. Evolució dels sòlids en suspensió volàtils i temps de residència cel·lular (A), la matèria orgànica en forma de DQO(B), del nitrogen en forma de nitrogen total (N_{TOT}), amoni (NH_4^+) i nitrat (NO_3^-) (C) i del fòsfor en forma de fosfats (D) durant el període 3a. | 40 |
| Figura 4.5. Configuració del cicle de treball de l'SBR durant període 3b. | 42 |
| Figura 4.6. Evolució dels sòlids en suspensió volàtils i temps de residència cel·lular (A), la matèria orgànica en forma de DQO(B), del nitrogen en forma de nitrogen total (N_{TOT}), amoni (NH_4^+) i nitrats i nitrits (NO_x^-) (C) i del fòsfor en forma de fosfats (D) durant el període 3b. | 43 |
| Figura 4.7. Resultats prova FISH de la mostra de fang del dia 321. | 44 |
| Figura 4.8. Evolució de les espècies de nitrogen i el pH durant la primera fase aeròbia d'un cicle de 8 hores del dia 342. | 45 |
| Figura 4.9. Resultats prova FISH de la mostra de fang del dia 352. | 46 |
| Figura 4.10. Perfil analític de fosfats per a l'eliminació de fòsfor a partir de PAOs (fase anaeròbia + aeròbia) i DPAOs (fase anaeròbia + anòxica). | 47 |
| Figura 4.11. Resultats prova FISH de la mostra de fang del dia 371. | 48 |

| | |
|--|----|
| Figura 4.12. Evolució dels sòlids en suspensió i temps de residència cel·lular (A), la matèria orgànica en forma de DQO(B), del nitrogen en forma de nitrogen total (N_{TOT}), amoni (NH_4^+) i nitrat (NO_3^-) (C) i del fòsfor en forma de fosfats (D) durant el període 3c. | 50 |
| Figura 4.13. Evolució de les espècies de nitrogen (A), fòsfor (B) i de les variables on-line de pH i OD (C) durant un cicle de 8 hores del dia 460 del reactor SBR. | 51 |
| Figura 4.14. Configuració del cicle de treball de l'SBR durant els últims dies de l'estudi. | 52 |
| Figura 4.15. Resultats prova FISH de la mostra de fang del dia 608. | 53 |
| Figura 4.16. Evolució de les espècies de carboni (A), nitrogen (B), fòsfor (C) i de les variables on-line de pH i OD (D) durant un cicle de 8 hores del dia 630 del reactor SBR. | 55 |
| Figura 4.17. Resultats prova FISH de la mostra de fang del dia 1 de l'estudi de grànul. | 58 |
| Figura 4.18. Estratègia per a disminuir el temps de sedimentació. | 59 |
| Figura 4.19. Evolució de l'índex volumètric de fangs (IVF) i els sòlids en suspensió totals (SST) del sistema durant el període d'estudi. | 60 |
| Figura 4.20. Fotografia de diferents mostres de grànuls del reactor SBR dels dies 0, 5 i 10 del procés. | 61 |
| Figura 4.21. Evolució de la matèria orgànica (A), el nitrogen (B) i el fòsfor (C) en l'influent i l'efluent del reactor granular SBR durant el període d'estudi. | 61 |

I INTRODUCCIÓ

1.1 Les aigües residuals i la problemàtica dels nutrients

L'aigua, el suport de la vida tal i com es coneix, és un recurs que proporciona la natura d'una manera renovable, però no il·limitada. La presència de l'home durant segles, ha influït negativament en la qualitat de l'aigua i en la seva capacitat d'autodepuració, la qual s'ha vist disminuïda per l'excés de contaminació generada per una societat en desenvolupament constant. La importància de la qualitat de l'aigua ja es reflectia, per exemple, en l'època dels romans, els quals construïen els aqüeductes per transportar l'aigua i evitar-ne la contaminació. A més a més, contaven amb un dels sistemes més antics de línies de clavegueram, com el sistema inicial de drenatge anomenat "Cloaca Maxima", els quals no van ser millorats fins a l'Era Moderna (Hansen, 1983) i que actualment continuen essent estudiats per una millor gestió de l'aigua.

La Directiva Marc de l'Aigua (DMA), creada pel Parlament Europeu (EWFD, 2000/60/EC) es basa en el fet que l'aigua no és un producte comercial, és una herència que cal protegir, defensar i tractar com a tal. Així doncs, la DMA dóna les pautes actuals que cal seguir pel correcte tractament i abocament de les aigües residuals amb la mínima pertorbació de l'ecosistema al qual s'engloben, així com també la minimització de la quantitat de residus generats.

Metcalf & Eddy (2003) defineixen les aigües residuals com la combinació de líquids que transporten residus procedents de residències, instal·lacions públiques i centres comercials i industrials, a les quals, eventualment, s'hi poden afegir aigües subterrànies, superficials i pluvials. La composició de l'aigua residual suposa que el seu abocament directe a un medi aquàtic provocaria males olors i consum d'oxigen derivats de la degradació de la matèria orgànica per via anaeròbia o aeròbia respectivament. Per altra banda, la presència de nutrients tals com el nitrogen i el fòsfor són responsables de l'eutrofització o creixement desmesurat d'aigües, amb la consegüent mortalitat de peixos i plantes (Balaguer *et al.*, 1998).

La depuració de les aigües residuals és doncs un punt clau en el manteniment dels ecosistemes aquàtics, així com també una assegurança de la qualitat de l'aigua per a pròximes generacions. Per tal que aquest tractament de les aigües eviti els efectes adversos en el medi ambient de les ja esmentades descàrregues de contaminants, la Directiva Europea d'Aigües Urbanes 91/271/CEE limita les concentracions dels components abocats a l'lera pública, els quals es resumeixen en la Taula 1.1.

Taula 1.1. Requeriments per descàrregues d'aigües residuals urbanes segons la Directiva Europea 91/271/CEE

| Paràmetre | Concentració | Percentatge mínim de reducció |
|---|---|-------------------------------|
| Demanda Bioquímica d'oxigen (DBO ₅) | 25 mg O ₂ · L ⁻¹ | 70 – 90 % |
| Demanda Química d'oxigen (DQO) | 125 mg O ₂ · L ⁻¹ | 75 % |
| Sòlids en suspensió | 35 mg SS · L ⁻¹ | 90 % |
| Nitrogen total | 15 mg N · L ⁻¹ | 70 – 80 % |
| | 10 mg N · L ⁻¹ (>100000 h.e.) | |
| Fòsfor total | 2 mg P · L ⁻¹ | 80 % |
| | 1 mg P · L ⁻¹ (>100000 h.e.) | |

El tractament de les aigües residuals es produeix gràcies a la combinació de processos físics, químics i/o biològics en les estacions depuradores, tot i que l'eliminació biològica de matèria orgànica i també de nutrients tals com el nitrogen i el fòsfor s'han imposat pels avantatges que suposen en front a la precipitació química (Terada *et al.*, 2006) i, per tant, les millores econòmiques i mediambientals.

1.2 Tractament de fangs activats

Des dels seus començaments l'any 1914, el procés de fangs actius desenvolupat per Arden i Lockett ha guanyat popularitat i, avui dia, és el tractament biològic més extensament utilitzat tan per aigües urbanes com industrials. El tractament d'aigües residuals amb fangs actius (Figura 1.1) és un procés biològic en el qual, aplicant diferents condicions d'operació anaeròbies, anòxiques i/o aeròbies permet el desenvolupament microbiològic de les espècies responsables de degradar la matèria orgànica, el nitrogen i el fòsfor (Corominas, 2006). Les espècies microbianes són les mateixes que es troben a la natura, però l'aplicació de determinades condicions d'operació produeix la selecció de determinades espècies en front a unes altres, depenent del nutrient que es vulgui extreure, d'aquesta manera s'accelera el procés de depuració natural (Balaguer *et al.*, 1998).

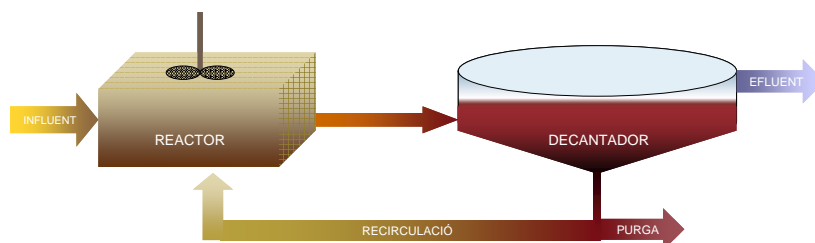


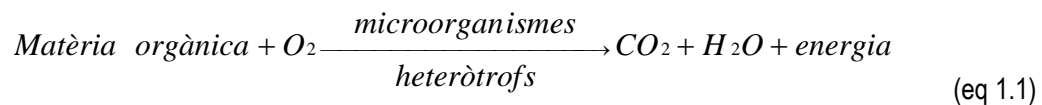
Figura 1.1. Esquema bàsic del tractament d'aigües residuals amb fangs actius.

El sistema d'operació en el tractament de fangs actius es basa en un reactor on té lloc el contacte de l'aigua a tractar amb els microorganismes. Posteriorment, és necessària la separació de la biomassa de l'aigua clarificada, utilitzant normalment un decantador. És en aquest darrer sistema de decantació on es procedeix a purgar una part dels fangs per evitar-ne l'envelliment i la resta es recircula fins al reactor per a mantenir-ne la concentració de sòlids. La diversitat de condicions aplicables en l'eliminació biològica de nutrients ha produït una extensa varietat en els sistemes d'operació de les plantes depuradores, alguns exemples en eliminació simultània de carboni, nitrogen i fòsfor són les configuracions A²/O, la Bardenpho modificada, la UCT (University of Cape Town) o el reactor seqüencial per càrregues (Sequencing Batch Reactor, SBR).

1.2.1 Eliminació biològica de matèria orgànica

La matèria orgànica es considera un contaminant de les aigües perquè afavoreix l'activitat microbiana i, com a conseqüència, l'aparició de males olors o el consum d'oxigen dissolt a l'aigua i que pot dificultar la vida aquàtica (Balaguer *et al.*, 1998).

Els microorganismes heteròtrofs són capaços d'oxidar la matèria orgànica soluble a CO₂ utilitzant l'oxigen com a acceptor d'electrons. Al mateix temps, la biomassa obté l'energia necessària per al creixement de noves espècies (Equació 1.1).



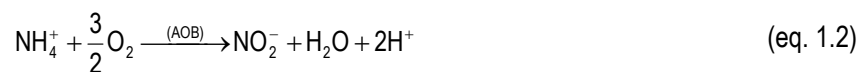
Així doncs, la fracció de matèria orgànica soluble en l'aigua és fàcilment assimilable per la biomassa en fase aeròbia. Per altra banda, la matèria orgànica particulada i col·loïdal cal que sigui hidrolitzada abans que els bacteris la puguin utilitzar pel seu metabolisme i el carboni no biodegradable restarà incorporat en els flocs de fang actiu fins que s'extreguin del sistema gràcies a la purga.

L'alternança de fases anaeròbies, anòxiques o aeròbies dona lloc a períodes amb altes càrregues de matèria orgànica seguits de situacions sense carboni orgànic. Sota aquestes situacions, alguns microorganismes heteròtrofs són capaços d'acumular substrat dins les seves cèl·lules en forma de glicogen, lípids o polihidroxialcanoats (PHA) per a una posterior utilització (De Kreuk, 2006).

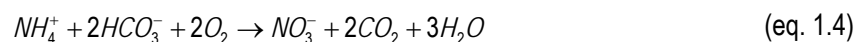
1.2.2 Eliminació biològica de nitrogen: nitrificació i desnitrificació

L'eliminació del nitrogen de les aigües residuals és necessària per l'efecte d'eutrofització que aquest compost causa en el medi i també pel consum d'oxigen que produeix l'amoni amb la conseqüent toxicitat per a la vida aquàtica. Les formes més comunes en les quals es pot presentar el nitrogen a l'aigua són el nitrogen orgànic i el nitrogen inorgànic en forma d'amoni (NH_4^+), de nitrats (NO_3^-) i, en quantitats menors, de nitrits (NO_2^-). El nitrogen orgànic, en presència d'enzims lliures, es pot hidrolitzar fàcilment a amoni a partir del procés anomenat amonificació (Ganigué, 2006). La resta d'espècies nitrogenades inorgàniques s'eliminen de l'aigua gràcies als processos de nitrificació i desnitrificació.

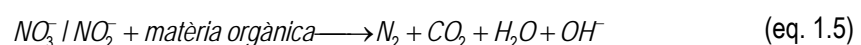
La nitrificació és el procés en el qual l'amoni s'oxida a nitrit (eq. 1.2) i posteriorment a nitrat (eq. 1.3) en presència d'oxigen. La primera conversió es produeix per un grup de bacteris coneguts com amonioxidants (*ammonium oxidizer bacteria*, AOB) i el pas de nitrit a nitrat el produeixen els bacteris nitritoxidants (*nitrite oxidizer bacteria*, NOB).



Aquest microorganismes (AOB i NOB) són autòtrofs, així doncs, utilitzen matèria inorgànica com a font de carboni i es caracteritzen per un creixement molt lent ja que l'oxidació d'amoni i nitrit aporten poca energia per mol de N. Finalment, en base a les equacions 1.2 i 1.3, la quantitat d'alcalinitat requerida per a dur a terme la reacció de nitrificació pot ser estimada com es mostra en l'equació 1.4 (Metcalf & Eddy, 2003).



El segon pas per a l'eliminació del nitrogen és la desnitrificació, en la qual el nitrit o el nitrat són utilitzats com a acceptors d'electrons per a l'oxidació de la matèria orgànica (eq. 1.5). La majoria de desnitrificants són heteròtrofs capaços d'efectuar la respiració aeròbia, però que en absència d'oxigen el substitueixen pel nitrat, utilitzant la matèria orgànica de les aigües residuals com a font de carboni (Balaguer et al., 1998).



Així doncs, aquest procés té lloc en condicions anòxiques, però la nitrificació i la desnitrificació poden ocórrer simultàniament (Simultaneous nitrification-denitrification, SND) dins el flocul, sempre i quan la penetració de l'oxigen en la profunditat del flocul sigui limitada i el substrat necessari per a la desnitrificació sigui present a l'interior (De Kreuk, 2006; Peters *et al.*, 2004; Zeng *et al.*, 2003b).

1.2.3 Eliminació biològica de fòsfor

L'eliminació del fòsfor per via biològica, o més coneguda amb el nom anglès *Enhanced Biological Phosphorus Removal* (EBPR), va ser descoberta per accident en una planta de tractament d'aigües al voltant de 1959, però no va ser fins a finals dels 70' que es van dissenyar els primers processos (Van Loosdrecht *et al.*, 1997).

La bioacumulació de fòsfor s'està usant com un dels mètodes més econòmics per extreure el fòsfor de les aigües residuals i, a més, és un sistema alternatiu a l'eliminació química (Okunuki *et al.*, 2004), la qual comporta la generació de fangs amb presència de metalls com l'alumini o el ferro (Clark *et al.*, 1997). Els organismes acumuladors de fòsfor (PAOs) són els encarregats de captar el contaminant desitjat (el fòsfor) de la fase aquosa a la sòlida, la qual s'extreu del sistema mitjançant la purga de fangs. Aquest procés requereix una seqüència de condicions anaeròbies i aeròbies. La Figura 1.2. mostra l'esquema metabòlic d'aquestes espècies durant les fases anaeròbia i aeròbia.

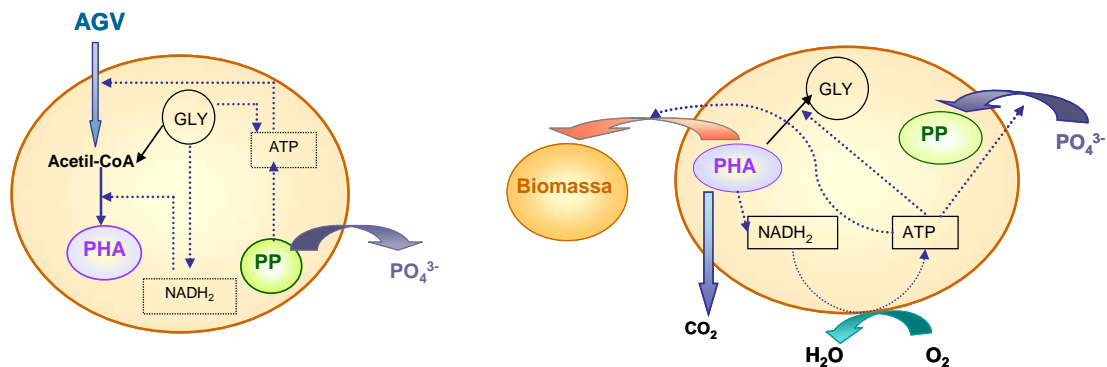


Figura 1.2. Esquema metabòlic dels PAOs en fase anaeròbia (esquerra) i en fase aeròbia (dreta).

Durant la fase anaeròbia, on s'introdueix el substrat, la font de carboni es degrada fins a obtenir àcids grassos volàtils (AGV) que són emmagatzemats pels PAO en forma de polyhidroxialcanoats (PHA) (Van Loosdrecht *et al.*, 1997; Vives, 2004; Pijuan *et al.*, 2005). L'energia d'aquest procés ve donada per la hidròlisi intracel·lular dels polifosfats (poly-P) alliberant fosfats en el medi aquós. Aquest procés s'anomena *P_{RELEASE}* i comporta un augment de fosfat en solució. Els equivalents de reducció necessaris

per a la conversió dels AGV a PHA s'extreuen de la glicòlisi del glicogen (Mino *et al.*, 1998; Smolders *et al.*, 1994). Finalment, en la fase aeròbia, o en fase anòxica quan la subespècie DPAO (denitrifying PAO) utilitza el nitrat com acceptor d'electrons (Hu *et al.*, 2002; Tsuneda *et al.*, 2006; Van Loosdrecht *et al.*, 1997), el PHA és utilitzat com a substrat pel creixement de les cèl·lules, per la formació del glicogen i per la síntesi del poly-P amb la conseqüent captació de fosfat del medi aquós (P_{UPTAKE}). Aquesta captació és major que la quantitat de fosfat alliberada en fase anaeròbia, produint un $P_{\text{LUXURY UPTAKE}}$, una quantitat neta de fòsfor captat respecte la concentració inicial (Lee *et al.*, 2001).

Els problemes més freqüents en el procés EBPR són les espècies que competeixen per la matèria orgànica com els desnitrificants o els GAOs (acumuladors de glicogen). Els GAOs també capten el substrat orgànic en fase anaeròbia, però a diferència dels PAOs, no produeixen la captació de fosfat del medi aquós en fase aeròbia (Oehmen *et al.*, 2005; Wong *et al.*, 2005; Zeng *et al.*, 2003a). Per altra banda, recentment s'han realitzat estudis on es demostra l'efecte inhibidor del nitrit en l'eliminació del fòsfor (Saito *et al.*, 2004; Sin *et al.*, 2007).

1.3 Tecnologia SBR

Els reactors discontinus seqüencials o SBRs (Sequencing batch reactor) són un sistema d'omplerta-buidat per al tractament d'aigües residuals amb fangs activats. L'essència de la tecnologia és un reactor en discontinu (*batch*) en el qual es poden combinar en diferents espais de temps les condicions anaeròbiques, aeròbiques i anòxiques. La diferència més important entre aquest sistema i els convencionals és que l'homogeneïtzació, la reacció, la sedimentació i el buidat es poden produir en el mateix tanc (EPA, 1999), estalviant així problemes d'espai pels decantadors o les recirculacions (Keller *et al.*, 1997) com es mostra en la Figura 1.3.

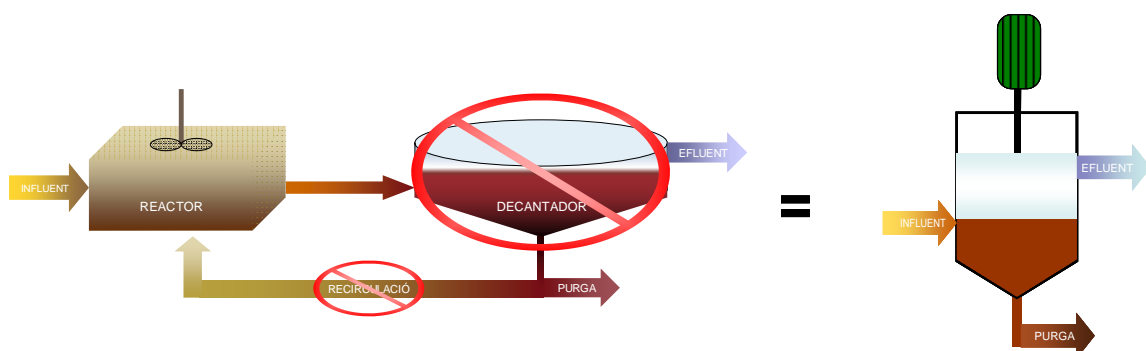


Figura 1.3. Comparació del sistema convencional de fangs actius amb la tecnologia SBR.

La tecnologia SBR no és un descobriment recent, ja que entre 1914 i 1920 s'usaven sistemes d'omplerta-buidat per a moltes operacions de tractament d'aigües residuals, però no va ser fins a finals dels anys 50'

que, gràcies als progressos en sistemes de control i aeració, va esdevenir un bon competidor als sistemes convencionals de fangs activats (EPA, 1999).

1.3.1 Característiques d'operació de la tecnologia SBR

L'SBR es pot definir com una tecnologia de fangs activats on totes les etapes es realitzen en diferents seqüències de temps en comptes de fer-ho en l'espai. La durada de cada fase i la combinació de cada etapa segons les condicions desitjades són escollides en funció del tractament que es vulgui realitzar fins a obtenir tot un cicle. Les principals fases que es poden trobar en un cicle complet són les següents (Figura 1.4.) :

- **Omplerta:** un flux d'aigua que prové del tanc d'alimentació entra dins el reactor i es mescla amb la biomassa.
- **Reacció:** la biomassa consumeix el substrat sota condicions controlades, ja siguin anaeròbies, anòxiques o aeròbies.
- **Sedimentació:** l'agitació s'atura de manera que els fangs es dipositen al fons del reactor i es separen de l'aigua clarificada.
- **Buidat:** s'extreu el sobrenedant o aigua tractada fins a un volum definit prèviament.
- **Purga:** s'extreu una quantitat definida del licor mescla per tal d'evitar l'envelliment dels fangs. No cal que sigui la fase final, es pot produir entre seqüències i, en molts casos, és una fase prescindible.
- **Idle:** és un temps mort entre cicles. S'utilitza per a fer reajustaments dels cicles i no és una fase necessària.

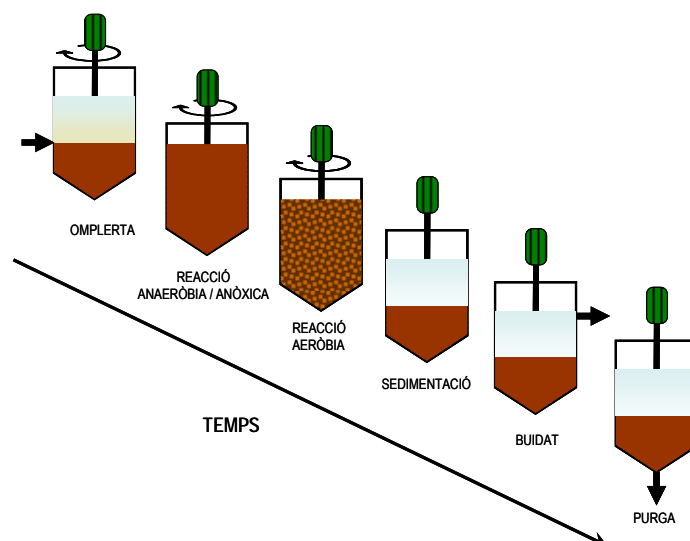


Figura 1.4. Esquema bàsic de les seqüències de fases d'un cicle en un SBR.

La possibilitat de realitzar totes les operacions del tractament biològic en un sol reactor i usant el temps com a control de seqüència és l'avantatge més profitós del sistema SBR (EPA, 1999), ja que redueix els costos en la construcció i també minimitza l'espai en el qual cal que sigui ubicat. Per altra banda, el reactor té una flexibilitat molt important que es posa de manifest amb les múltiples seqüències de fases per als diversos tractaments als quals s'aplica, a més aquesta possibilitat de variació del sistema permet suportar més adequadament les variacions inesperades d'una aigua residual urbana sense afectar massa els fangs activats, com poden ser les irregularitats en els cabals o també en les concentracions del substrat (Vives, 2004).

En contraposició a tots els avantatges del sistema, cal esmentar que l'inconvenient principal és el fet de treballar en discontinu i que, comparat amb els sistemes convencionals, té un nivell de sofisticació i manteniment més elevat (EPA, 1999).

1.3.2 Estratègies d'alimentació d'un SBR

L'alimentació en un sistema SBR es pot produir utilitzant diferents estratègies segons els propòsits per al tractament i la naturalesa de l'aigua a tractar.

Existeixen tres variacions d'alimentació segons les condicions interiors del reactor en el moment de l'omplerta: alimentació estàtica, airejada o agitada.

L'alimentació estàtica es produeix quan l'aliment s'introdueix dins el reactor sense agitació ni aeració i afavoreix una elevada concentració de matèria orgànica quan s'inicia l'agitació en l'etapa de reacció. L'elevada concentració de substrat crea un ambient favorable per a la formació de flocul en front als filamentosos i, per tant, una millor sedimentació. A més a més, l'alimentació estàtica promou la formació de productes interns d'emmagatzament com el PHA quan els microorganismes estan sotmesos a grans quantitats de substrat (EPA, 1999).

L'alimentació airejada es dona quan l'omplerta del reactor es produeix sota condicions aeròbies, en les quals l'aportació d'oxigen permet la mescla de l'aliment amb la biomassa i la reducció dels temps d'aeració en les fases de reacció del sistema (EPA, 1999).

Tot i això, l'alimentació agitada, la qual es produeix quan la biomassa i l'aliment es mantenen en contacte en fase d'omplerta gràcies al mecanisme d'agitació del sistema, afavoreix l'inici de les reaccions microbianes. Aquesta estratègia d'alimentació es pot produir sota condicions anaeròbies o anòxiques, en

les quals la introducció de substrat permet l'alliberació del fòsfor o la desnitrificació aprofitant la matèria orgànica de l'aigua residual i augmentant l'eficiència del procés (Puig *et al.*, 2004).

Altres estratègies d'omplerta pel que fa la durada i el repartiment de l'aliment al llarg d'un cicle poden millorar l'eficiència del procés. Pel que fa la durada de l'alimentació, es poden aplicar omplertes curtes o llargues. Si l'alimentació és curta, el procés estarà caracteritzat per una alta càrrega instantània. Si la fase d'omplerta és llarga, la biomassa experimentarà un augment de càrrega gradual en la qual les baixes concentracions dels constituents de l'aigua seran constants. Les omplertes llargues poden durar tot el temps de reacció d'un cicle esdevenint un procés d'alimentació contínua (Vives, 2004). Per altra banda, l'omplerta dels reactors SBR es pot realitzar amb una sola alimentació a l'inici del cicle, durant tot el cicle (alimentació contínua) o repartida en diferents fases del cicle (step-feed), en la qual es produeixen diverses alimentacions fins a completar el volum d'aigua a tractar.

1.3.3 Paràmetres d'operació de la tecnologia SBR

L' SBR, a diferència del tractament de fangs convencionals, és un sistema discontinu que opera per cicles que es repeteixen consecutivament. Aquest fet implica que la present tecnologia té en compte nous paràmetres o que, simplement, els calcula de manera diferent. La taula 1. 2. presenta els principals paràmetres operacionals amb el seu símbol, l'equació i la descripció (Corominas, 2006).

Taula 1.2. Principals paràmetres operacionals de la tecnologia SBR

| Paràmetre | Unitats | Equació | Descripció |
|-------------------------------|--------------------------|---|---|
| Volum màxim | Litres | $V_T = V_{\min} + V_s$ | V_{\min} = volum mínim del reactor V_s = volum de sortida = volum tractat |
| Relació de canvi | - | $R_E = \frac{V_s}{V_T}$ | Relació entre el volum tractat i el volum màxim del reactor |
| Nombre de cicles per dia | Cicles dia ⁻¹ | $N_C = 24 / t_c$ | Determinat pel temps total de cicle en hores (t_c) |
| Cabal de l'influent | Litres dia ⁻¹ | $Q_I = V_s \cdot N_C$ | Litres d'aigua tractada per dia |
| Temps de residència hidràulic | dia | $TRH = \frac{V_T}{Q_I} = \frac{1}{R_E \cdot N_C}$ | Temps de residència d'una partícula líquida |
| Temps de residència cel·lular | dia | $TRC = \frac{V_T \cdot X_R}{N_C (V_P X_P + V_S X_S)}$ | X_R, P, S = Sòlids en suspensió totals del reactor, purga o sortida V_P = volum de purga |

Els dos paràmetres crítics per al disseny de tractament de fangs actius són el temps de residència hidràulic (TRH) i el temps de residència cel·lular o edat cel·lular del fang (TRC), el període mitjà de temps durant el qual el fang roman dins el sistema (Metcalf & Eddy, 2003). El temps de residència hidràulic o cel·lular efectiu per a cada fase de reacció del cicle SBR es troba aplicant el percentatge de fase. Un exemple per a calcular l'edat cel·lular del fang aeròbia es troba a l'equació 1.6.

$$TRC_{aer} = TRC \cdot \% AER \quad (1.6)$$

2 OBJECTIUS

Aquest treball de recerca s'emmarca dins el projecte *"Desarrollo de un Sistema de Control Inteligente aplicado a un Reactor Secuencial por Cargas (SBR) para la eliminación de Materia Orgánica, Nitrógeno y Fósforo"* (DPI2005-08922-C02-01) del *Ministerio de Ciencia y Tecnología*.

El plantejament del projecte és crear un sistema de control d'un SBR a partir de dades extretes d'una planta pilot. L'estudi que es va dur a terme en aquest treball es basa en l'anàlisi de les dades de la planta pilot SBR del Laboratori d'Enginyeria Química i Ambiental (LEQUIA - UdG) i els objectius plantejats són els següents:

- Eliminar simultàniament la matèria orgànica, el nitrogen i el fòsfor a partir del tractament biològic d'aigües residuals.
- Estudiar les condicions òptimes d'operació d'un SBR per a l'eliminació del carboni i els nutrients.
- Estudiar el comportament de les espècies químiques durant els cicles de treball de l'SBR i relacionar-les amb les variables físiques obtingudes en línia.
- Estudiar l'evolució de les espècies microbianes que formen la biomassa per al tractament biològic de nutrients.
- Estudiar la formació i creixement del fang granular aplicat a l'eliminació biològica de nutrients.

3 MATERIALS I MÈTODES

3.1 Planta Pilot

Les plantes pilot, els elements intermedis entre el coneixement teòric i l'aplicació dels processos a escala industrial, són una eina essencial en la recerca perquè permeten obtenir una visió àmplia de les condicions d'operació i de l'evolució de les reaccions d'un procés, ja sigui químic o biològic.

La planta pilot utilitzada en el present treball es troba situada en el laboratori de plantes pilot que el Laboratori d'Enginyeria Química i Ambiental (LEQUIA - UdG) té a la Facultat de Ciències de la Universitat de Girona. La instal·lació, encarada a l'estudi de l'eliminació biològica de nutrients amb fangs de depuradora, està equipada amb sistemes de monitorització i control que permeten un millor seguiment del procés durant el seu període de funcionament (24 hores al dia, 365 dies l'any).

Els elements més importants de la planta pilot, esquematitzats a la Figura 3.1, són el reactor, el qual s'utilitza com a SBR, les bombes peristàltiques, el tanc d'alimentació i el panell de control.

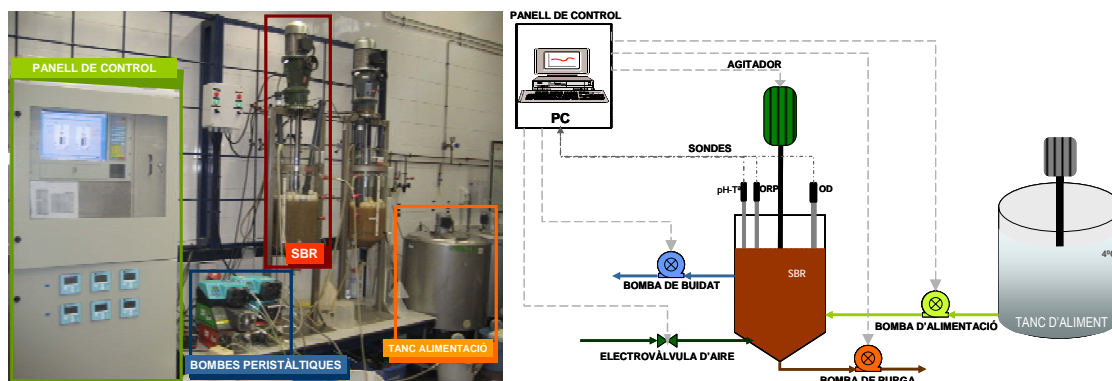


Figura 3.1. Fotografia i diagrama de procés de la planta pilot SBR.

3.1.1 Reactor i tanc d'alimentació

El reactor SBR d'aquesta instal·lació experimental és un cilindre de vidre de 30 litres de capacitat màxima i amb el fons en forma cònica, la qual cosa facilita la sedimentació dels fangs en el mateix dipòsit. L'SBR, que actua amb una sèrie de cicles d'omplerta-reacció-sedimentació-buidat que es repeteixen al llarg del temps, està equipat amb quatre sondes Endress-Hauser® (pH - temperatura, RedOx i oxigen) i un agitador (hèlix marina agitant a 400 rpm) que aconsegueix la homogeneïtzació del sistema en les fases

de reacció. Durant les etapes de reacció el sistema pot treballar sota condicions anaeròbiques, anòxiques i aeròbies, en les quals una electrovàlvula permet el pas d'aire comprimit segons convingui. Les bombes peristàltiques d'entrada, sortida i purga (Watson Marlow®) permeten que el funcionament de cada cicle es pugui realitzar de manera automatitzada, fet que facilita el treball i la manipulació de la planta. La introducció de l'influent es produeix per la part inferior del reactor, mentre que la sortida està fixada a l'alçada mínima de 16 litres. Per últim, la purga s'extreu de l'interior del reactor en condicions homogènies i abans del període de sedimentació per tal de mantenir el temps de residència cel·lular (TRC) dels fangs.

El tanc d'alimentació del qual es disposa és d'acer inoxidable i pot contenir fins a 150 litres. L'aliment es manté a l'interior agitat i refrigerat a 4°C per evitar la degradació de l'influent.

3.1.2 Sistema de monitorització i control

El sistema de monitorització i control el formen diferents elements, com són les sondes de pH – temperatura (CPF81-NN11C2, Endress-Hauser®), d'oxigen dissolt (Oxymax-W COS4, Endress-Hauser®) i RedOx (CPF82-PA11A2, Endress-Hauser®), així com també les bombes peristàltiques i el panell de control.

El panell de control està format pels transmissors (Liquisys M CPM 223/253, Endress-Hauser®), els quals amplifiquen el senyal de les sondes, les plaques d'adquisició i control de dades (PCI-821PG i PCLD-885, Advantech) que permeten la transformació del senyal analògic a digital i l'actuació sobre els elements que permeten l'omplerta, buidat, agitació i aeració del sistema, i l'ordinador industrial, equipat amb un software creat pel LEQUIA - UdG i programat amb LabWindows® (Figura 3.2.), el qual facilita el control sobre els elements d'actuació i emmagatzema i representa gràficament els valors on-line de les sondes.

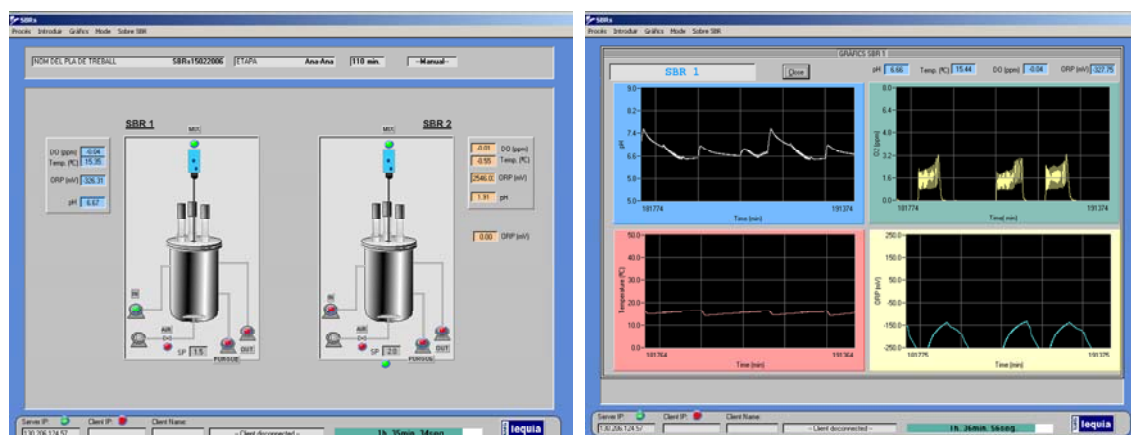


Figura 3.2. Interfície del programa de control dels SBR (esquerra) i representació *in situ* de les variables on-line.

Els canvis químics i físics produïts per l'activitat microbiana en el tractament biològic d'aigües residuals poden donar lloc a punts crítics en el perfil de les variables on-line obtingudes de les sondes, els quals, fins i tot, poden ser utilitzats com a punts clau per al control automatitzat del procés (Akin i Ugurlu, 2005; Corominas, 2006; Puig *et al.*, 2005). Així doncs, la monitorització del pH, l'oxigen dissolt i el potencial RedOx permeten una estimació *in situ* del comportament del tractament biològic de l'aigua residual. Aquest comportament, però, variarà segons les condicions d'operació i l'estratègia aplicada a cada reactor.

3.1.3 Condicions d'operació

L'estudi realitzat pretén eliminar biològicament i de manera simultània la matèria orgànica, el nitrogen i el fòsfor presents a les aigües residuals. La taula 3.1. mostra les condicions d'operació generals que es mantingueren durant tot el període d'estudi. Pel fet que es treballés amb un reactor SBR, els cicles d'operació es van definir en funció del temps amb una durada total de 8 hores, els quals s'anaven repetint consecutivament. La temperatura del reactor venia regida pel control de la temperatura ambient del laboratori, la qual es mantenia al voltant de 20°C. Per altra banda, durant tot l'estudi es va mantenir l'oxigen a un punt de consigna de 1.5 mg OD · L⁻¹ durant les fases de reacció aeròbia.

Taula 3.1. Condicions generals d'operació de la planta pilot SBR

| Paràmetre | Valor | Unitats |
|---------------------------------|-----------|-------------------------|
| Temperatura del reactor | 20 ± 3 | °C |
| Durada del cicle de treball | 480 | min |
| Volum mínim de reactor | 16 | L |
| Volum de purga | 0.3 ± 0.1 | L |
| Punt de consigna oxigen dissolt | 1.5 | mg OD · L ⁻¹ |

Les configuracions dels cicles de treball de l'SBR han anat variant durant l'estudi realitzat segons les necessitats o els objectius del procés. La durada i la distribució de les fases de cada període s'especificaran més endavant. Tot i això, la configuració global de cada cicle ha mantingut un patró similar, en la qual es presenta una zona encarada per a l'eliminació del fòsfor a l'inici del procés (fase anaeròbia + aeròbia) i la resta del cicle aplicat a l'eliminació del nitrogen (fase anòxica + aeròbia). La utilització de la metodologia step-feed (diverses alimentacions en un mateix cicle) ha permès el repartiment i aprofitament de la matèria orgànica per a cadascuna de les zones (Puig *et al.*, 2007a), tant la centrada al fòsfor com la del nitrogen. Per altra banda, períodes amb alimentacions curtes i fases anaeròbies llargues afavoreixen el procés del fòsfor, aquest fet provoca l'alimentació de volums d'aigua

diferents entre la primera omplerta i les següents, en les quals s'introdueix menys aliment per tal de mantenir l'eliminació de nitrogen (Vives, 2004). La Figura 3.3. presenta l'esquema general que han seguit els diferents cicles d'operació de l'SBR.

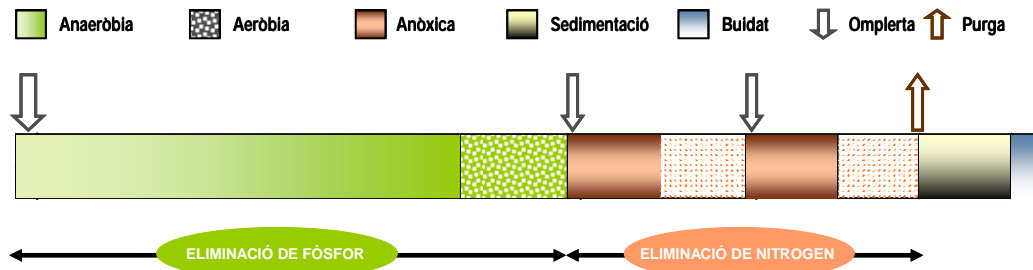


Figura 3.3. Cicle general d'operació per a l'eliminació de matèria orgànica i nutrients aplicant una estratègia step-feed en un SBR.

L'aplicació de l'step-feed per eliminació biològica de nutrients, doncs, redueix el volum del bioreactor per a una eficiència definida o incrementa la capacitat donada quan es fixa el volum i, a més a més, ajuda a obtenir un procés de nitrificació més robust (Johnson *et al.*, 2005).

3.1.4 Aliment

L'estudi de l'SBR dut a terme a la planta pilot de laboratori s'alimentava amb un aliment sintètic preparat cada 4 dies, mantenint-lo en un tanc refrigerat a 4°C per evitar l'activitat microbiana dins el dipòsit. El tractament biològic realitzat es basava en la recerca del tractament d'aigües residuals urbanes, així doncs, l'aliment sintètic preparat havia de tenir unes característiques similars als influents de qualsevol depuradora.

La composició bàsica de l'aliment es fonamentava en compostos químics com a font de carboni, nitrogen, fòsfor i altres nutrients. El percentatge més gran de matèria orgànica el proporcionava l'etanol, escollit per a l'estudi de l'eliminació biològica del fòsfor, i també del nitrogen, com a font de carboni sense àcids grassos volàtils (Puig *et al.*, 2007b). La resta de composició de l'aliment la formaven l'extracte de carn deshidratat (*Dehydrated meat extract*, DME) com a font de matèria orgànica i nitrogen complexes i lixiviat que aportaven la matèria orgànica no biodegradable i altes quantitats d'amoni a la mescla.

Per tal d'obtenir les concentracions mitjanes el més properes a les desitjades es preparaven 150 litres d'aliment en el dipòsit d'alimentació amb les següents proporcions: 84.6 g DME, 40 mL Etanol 96%, 60 mL Llet, 2 L Lixivià, 42 g NaHCO₃, 27.5 g NH₄Cl, 27.5 mL solució de microelements (1.03 g MnCl₂, 0.01 g ZnCl₂, 0.12 g CuCl₂, 30.36 g MgSO₄, 4.8 g FeCl₃, 7.34 g CaCl₂ en 1 L) i 62 mL tampó fosfat concentrat

(17 g KH_2PO_4 , 43.5 g K_2HPO_4 , 35.02 g Na_2HPO_4 en 1 L). Un cop preparat el nou aliment es caracteritzava l'aigua sintètica (Taula 3.2) realitzant anàlisis de DQO total i soluble (filtrada a 1.2 μm), N-NH_4^+ , P-PO_4^{3-} , fòsfor total, N-NO_3^- , TKN i alcalinitat i anàlisis periòdiques de DBO_5 .

Taula 3.2. Concentracions mitjanes de l'influent de la planta pilot SBR

| | Paràmetre | Concentració | Unitats |
|---|--|--------------|-------------------------------------|
| C | Demanda Bioquímica d'oxigen (DBO_5) | 417 | $\text{mg O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ |
| | Demanda química d'oxigen (DQO) | 548 | |
| N | Amoni (NH_4^+) | 69 | $\text{mg N} \cdot \text{L}^{-1}$ |
| | Nitrogen Kjeldahl total (TKN) | 77 | |
| | Nitrits (NO_2^-) | 0.11 | |
| | Nitrats (NO_3^-) | 1.54 | |
| P | Fòsfor total (PT) | 7.5 | $\text{mg P} \cdot \text{L}^{-1}$ |
| | Fosfats (PO_4^{3-}) | 6.64 | |

3.2 Mètodes analítics

Els reactius utilitzats per a la realització de totes les anàlisis eren de la casa comercial PANREAC classificades com substàncies de puresa per anàlisi (PA) o reactiu especial (RE). La metodologia analítica emprada que s'ha dut a terme durant aquest estudi, correspon a la descrita a *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 1995). L'amoni (N-NH_4^+) i el TKN (N-TKN) s'ha analitzat mitjançant un destil·lador i valorador automàtic (Destil·lador BÜCHI B-324), els nitrats, nitrits i fosfats (N-NO_3^- , N-NO_2^- , P-PO_4^{3-}) mitjançant un equip de cromatografia iònica (Metrom 761-Compact IC) i el carboni orgànic total (COT) i el carboni inorgànic (CI) mitjançant l'aparell TOC-V CSH (Shimadzu).

3.2.1 Determinació dels Sòlids en Suspensió Totals (SST)

Es pren un volum de mostra conegut i es filtra al buit, amb un filtre de fibra de vidre de 47 mm de diàmetre i 1,2 μm de diàmetre de porus, prèviament tarat en una balança analítica. Es deixa dins l'estufa durant 24 hores a 103-105°C. Després d'efectuar el refredament en el dessecador, es pesa el filtre amb la mostra. Els sòlids en suspensió totals es determinen per la diferència entre el pes del filtre i la mostra i la tara del filtre, tenint en compte el volum de mostra filtrat (equació 3.1).

$$SST = \frac{(B - A) \cdot 10^6}{V} \quad (\text{eq 3.1})$$

on SST = sòlids en suspensió totals, mg SST · L⁻¹.

A = Tara, g.

B = Pes al cap de 24 h, g.

V = Volum de mostra agafat, mL.

3.2.2 Determinació dels Sòlids en Suspensió Volàtils (SSV)

Un cop assecat el sòlid (corresponent als sòlids en suspensió totals), s'introdueix el filtre dins una càsula durant 1 hora a la mufla a 550°C. Passat aquest temps, es deixa refredar, primer a l'estufa i després al dessecador. Els sòlids en suspensió volàtils es calculen com la diferència entre el pes obtingut i el pes dels sòlids en suspensió totals, tenint en compte el volum de mostra agafat (equació 3.2).

$$SSV = \frac{(B - C) \cdot 10^6}{V} \quad (\text{eq 3.2})$$

on SSV = sòlids en suspensió totals volàtils, mg SSV · L⁻¹.

B = Pes al cap de 24 h, g.

C = Pes després de la mufla, g.

V = Volum de mostra agafat, mL.

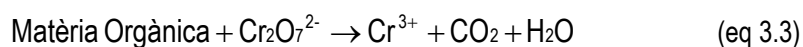
3.2.3 Determinació de la Demanda Química d'Oxigen (DQO)

Existeixen diferents mètodes per quantificar la matèria orgànica present en les aigües residuals, un d'ells és la Demanda Química d'Oxigen (DQO). La DQO es determina mitjançant una modificació del mètode del dicromat i per reflux obert, on es realitza una valoració per retrocés. La quantitat de matèria orgànica de la mostra que és susceptible de ser oxidada per un oxidant fort, en aquest cas el dicromat, es calcula a partir de la valoració del dicromat consumit en la digestió.

Els reactius utilitzats es descriuen a continuació:

- Reactiu de dicromat: Es parteix d'una solució comercial estandarditzada a 0,04 M de K₂Cr₂O₇, que conté una concentració de 0,2 g · L⁻¹ de sulfat de mercuri. El dicromat actua com agent

oxidant de la matèria orgànica, segons l'equació 3.3. El sulfat de mercuri s'utilitza per emascarar els clorurs perquè no interfereixin en la reacció.



- Reactiu de sulfat de plata: S'afegeixen 10 g de Ag_2SO_4 a un litre d' H_2SO_4 concentrat i es deixa reposar 1 o 2 dies. L'àcid sulfúric s'utilitza per donar medi àcid i el sulfat de plata actua com a catalitzador.
- Sal de Mohr (sulfat amònic ferrós, SAF): Es dissolen 39,61 g de $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ en 20 mL d' H_2SO_4 concentrat, diluïts en 1 litre d'aigua destil·lada donant una concentració de 0,1 N. És l'agent valorant del dicromat que resta després del període d'oxidació.

Procediment:

En un tub de DQO es col·loquen, en aquest ordre, 10 mL de mostra (o aigua destil·lada, per fer el blanc), 5 mL de la solució de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ i 15 mL de la solució d'àcid sulfúric amb sulfat de plata. S'acoba el condensador immediatament i es posa al digestor durant dues hores a 130°C . Després es deixa refredar i s'addicionen 40 mL d'aigua destil·lada a través del condensador, per arrossegar la fracció que ha quedat condensada en les parets del tub. Un cop estigui freda la solució, es valora amb la Sal de Mohr, utilitzant com a indicador la ferroïna.

Estandardització del SAF:

La Sal de Mohr (SAF) és una sal inestable que cal estandarditzar cada cop que s'utilitzi. Es col·loquen en un erlenmeyer en aquest ordre 45 mL d'aigua destil·lada, 5 mL de la solució de dicromat potàssic i 20 mL d'àcid sulfúric 2M. Es deixa refredar la solució, es posa la ferroïna i després es valora amb el SAF.

La concentració de SAF es calcula segons l'equació 3.4.

$$N_{\text{SAF}} = \frac{N_{\text{DC}} * A}{B} \quad (\text{eq 3.4})$$

on N_{SAF} = Normalitat del SAF.

N_{DC} = Normalitat del dicromat.

A = Volum de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ agafat, mL.

B = Volum de SAF gastat en la valoració de la mostra, mL.

La DQO es determina mitjançant l'equació 3.5.

$$DQO_{mostra} = \frac{N_{SAF} * (V_{blanc} - V_{mostra}) * 8000}{V_{md}} \quad (\text{eq 3.5})$$

on DQO = Demanda Química d'Oxigen, mg O₂ · L⁻¹.

N_{SAF} = Normalitat trobada en l'estandardització del SAF.

V_{blanc} = Volum de SAF gastat en la valoració del blanc, mL.

V_{mostra} = Volum de SAF gastat en la valoració de la mostra, mL.

V_{md} = Volum de mostra agafat per digerir, mL. Es cas d'haver fet alguna dilució s'ha de tenir en compte en aquest terme.

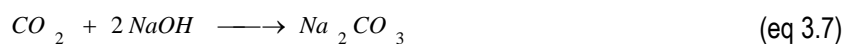
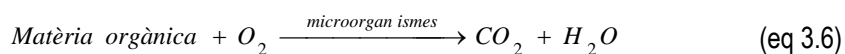
La mesura de la DQO filtrada dona la DQO soluble, i la mesura de la DQO sense filtrar dona la DQO total.

La DQO particulada s'obté restant la DQO soluble de la DQO total.

3.2.4 Determinació de la Demanda Bioquímica d'Oxigen (DBO)

La Demanda Bioquímica d'Oxigen (DBO) és una altra mesura de la matèria orgànica present en una mostra. Indica la quantitat de matèria orgànica biodegradable. En aquest cas, el consum d'oxigen per la degradació de matèria orgànica es determina a través d'un sistema OXITOP de WTW (compost per unes ampolles amb capçal WTW-OXITOP C, una incubadora WTW-IS 606-6/4i i uns multi-agitadors WTW-OXITOP IS).

El principi bàsic del procés és la mesura de la disminució de la pressió causada per un consum d'O₂ i una absorció de CO₂ que es produeix en l'oxidació de la matèria orgànica per part de microorganismes, segons les Equacions 3.6 i 3.7.



Els reactius utilitzats són els que es mostren a continuació:

■ Solucions salines:

Solució tampó de fosfats pH 7.2: Es dissolen 8.5 g KH₂PO₄, 21.75 g K₂HPO₄, 33.4 g Na₂HPO₄ · 7H₂O i 1.7 g NH₄Cl i s'arrasa a un litre.

Solució de sulfat de magnesi heptahidratat: Es dissolen 22.5 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ i s'arrasa a un litre.

Solució de Clorur de calci: Es dissolen 27.5 g CaCl_2 i s'arrasa a un litre.

Solució de clorur de ferro III hexahidratat: Es dissolen 0.25 g $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ i s'arrasa a un litre.

- Aigua de dilució i blanc: Es posa aigua destil·lada o aigua mineral de compra a bombollear durant una hora i seguidament se li afegeix un mil·lilitre de cada solució salina per litre d'aigua de dilució a preparar.
- Aigua de sembra : S'utilitza per inocular els blancs, els patrons i totes les mostres que es sospita que no tenen suficient vida microbiana, com podria ser una aigua d'origen industrial. L'aigua de sembra és una aigua amb gran activitat microbiana i que conté molt poca matèria orgànica, aquesta es pot obtenir de diverses procedències: aigua residual urbana de baixa concentració en matèria orgànica prèviament filtrada, aigua procedent de riu o llac, cultius de laboratori adaptats a l'aigua que es vol analitzar o material de sembra comercial.
- Solució de control o patró (glucosa - àcid glutàmic): Es pesen 0.150 g de D-glucosa ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$) i 0.150 g d'àcid L-glutàmic, prèviament assecats a 105°C durant una hora. Es dissolen en un litre amb l'aigua de dilució sembrada prèviament. La DBO_5 experimental hauria de ser aproximadament de $210 \pm 20 \text{ mg O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$.
- Solució inhibidora de la nitrificació Alil tiourea (ATU, solució $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$): Aquest reactiu cal conservar-lo a la nevera i és estable unes dos setmanes. S'utilitza per evitar la reacció de nitrificació (consum d'oxigen) a les mostres que s'analitzen, i evitar errors en els resultats.
- NaOH en forma de lleties: Es col·loquen dos lleties d'hidròxid de sodi al tap quedant així en suspensió i sense tocar la mostra d'aigua. Aquest reactiu servirà per capturar tot el CO_2 que desprenen els microorganismes durant la reacció d'oxidació biològica de la matèria orgànica.

Procediment:

Per la preparació de cada mostra: a cada ampolla s'addiciona un volum de mostra en funció del rang de DBO esperat; seguidament s'hi addicionen 5 mL d'aigua de sembra i unes gotes d'ATU. Abans de tancar cada ampolla cal posar-hi dos o tres lleties de NaOH per tal d'absorvir el CO_2 que formaran els organismes.

Seguidament es prepara un blanc per cada rang de treball, seguint el mateix procediment que per les mostres però utilitzant aigua de dilució enlloc de mostra. També cal preparar un patró per validar els resultats. La preparació és igual a la de les mostres, canviant el volum de mostra per la solució patró.

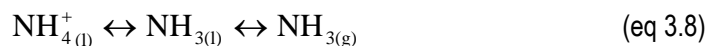
Un cop preparades les mostres, els blancs i el patró, es col·loquen a la incubadora durant el temps indicat (DBO_5 , DBO_{10} ... DBO_x). Passat aquest temps es llegeix l'oxigen consumit emprant un comandament.

3.2.5 Determinació de la concentració d'amoni (NH_4^+)

L'amoni de les aigües residuals es determina mitjançant una destil·lació (Destil·lador BÜCHI B-324) amb una posterior valoració mitjançant un valorador automàtic (Titrino 719S Metrohm). La mesura s'obté directament ($\text{mg N-NH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$) amb un registrador (Citizen IDP 460 RF).

El principi bàsic del procés de destil·lació que es realitza amb aquest aparell és convertir l'amoni en amoníac gas mitjançant l'acció d'una base forta i elevant el pH per sobre de 11. Aleshores el NH_3 es difon cap a una solució d'àcid bòric a on tindrà lloc la valoració mitjançant un elèctrode de pH.

L'equilibri entre l'amoni i l'amoníac segons el pH es detalla a l'equació 3.8.



Els reactius utilitzats a l'anàlisi de l'amoni són els que es mostren a continuació:

- Solució Indicadora d'Àcid Bòric 3%: Es dissolen 30 g d'àcid bòric (H_3BO_3) en un litre d'aigua Milli-Q. Aquesta solució serveix per recollir l'amoni destil·lat. S'afegien 65 mL per mostra.
- Solució NaOH concentrada 40%: Serveix per donar un pH bàsic. S'afegien 25 mL per mostra analitzada.
- Àcid Sulfúric 0.1N: Es prepara a partir del l'àcid sulfúric concentrat o per dilució d'una solució intermitja. S'estandarditza per valoració amb tris i l'indicador és roig de metil.

Procediment:

En un tub de destil·lació, es col·loquen 25 mL de mostra (o aigua destil·lada, pel cas del blanc) i es col·loquen al destil·lador, una vegada s'ha fet el pre-escalfament, els rentats i el blanc. El procés de destil·lació té una durada de 4 minuts. Un cop tota la mostra ha estat destil·lada, es procedeix a valorar-la

automàticament amb àcid sulfúric 0.1N prèviament estandarditzat. La determinació de l'amoni es realitza mitjançant una valoració amb punt final (pH=4,65). Quan acaba la valoració, s'obté el resultat imprès al registrador.

Per calcular la concentració d'amoni s'introdueix la següent fórmula (3.9) al mètode que s'encarrega de realitzar la valoració automàtica.

$$N - NH_4^+ = \frac{(A - B) * 1000 * 14}{V_{mostra}} * N_{H_2SO_4} \quad (\text{eq 3.9})$$

on $N - NH_4^+$ = concentració de nitrogen en forma d'amoni, mg $N-NH_4^+ \cdot L^{-1}$.

$N_{H_2SO_4}$ = Normalitat trobada en l'estandardització de l'àcid sulfúric 0.1N

A = volum d'àcid sulfúric gastat en la valoració de la mostra, mL.

B = volum d'àcid sulfúric gastat en la valoració del blanc, mL.

V_{mostra} = Volum de mostra agafat, mL.

En cas de no poder fer l'anàlisi immediatament després de la recollida de la mostra, es pot guardar la a la nevera a 4°C, un màxim de 2 dies.

3.2.6 Determinació del Nitrogen Kjeldahl Total (TKN)

El Nitrogen Kjeldahl Total (TKN) es determina a partir d'una modificació del mètode semi-micro-Kjeldahl, que consisteix primerament amb una digestió on es transforma tot el nitrogen orgànic a amoni i posteriorment, amb una destil·lació i valoració del destil·lat com en l'apartat anterior, es troba el valor de TKN.

Els reactius utilitzats són els que es mostren a continuació:

- Catalitzador de Seleni: Catalitzador Kjeldahl (Se) en pastilles d'AFORA-RE, 0,1% Se, per a garantir la completa transformació del nitrogen orgànic en amoniacal.
- Àcid Sulfúric concentrat.
- Reactius destil·lació del Nitrogen Amoniaca: (explicats en l'apartat 3.2.5)

Procediment:

En un tub de TKN (com els del destil·lador), es col·loquen 50 mL de mostra (o aigua destil·lada, pel cas del blanc), 10 mL d'àcid sulfúric concentrat i una pastilla de catalitzador de Seleni, es tapa amb el col·lector i es posa tot a digerir. La digestió consta de dues parts: la primera a 200°C i té una durada de 45 minuts, i la segona d'un màxim de 105 minuts o fins obtenir una solució transparent (o color palla) a 370°C.

Un cop acabada la digestió, es deixa refredar i s'addicionen 50 mL d'aigua destil·lada, per tal de tenir un volum suficient alhora de destil·lar i evitar reaccions violentes al afegir la sosa. La destil·lació i posterior valoració del nitrogen es realitza igual que en el cas anterior de l'amoni, mitjançant el destil·lador BÜCHI B-324.

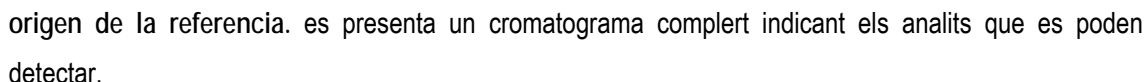
En cas de no poder fer l'anàlisi immediatament després de la recollida de la mostra, es guarda a la nevera a 4°C i a pH 1,5 - 2,0 mitjançant l'addició de dues gotes d'àcid sulfúric concentrat.

3.2.7 Determinació del Nitrogen Orgànic i del Nitrogen Total

El Nitrogen Orgànic (N_{org}) s'obté com la diferència del Nitrogen Kjeldahl Total (TKN) i el Nitrogen Amoniacal ($N-NH_4^+$). El resultat es dona en forma de ppm N.

El Nitrogen Total (N_{TOT}) és la suma del Nitrogen Kjeldahl Total (TKN) i la concentració de nitrats ($N-NO_3^-$) i nitrits ($N-NO_2^-$).

3.2.8 Determinació de la concentració de nitrits i nitrats (NO_2^- i NO_3^-) i fosfats (PO_4^{3-})

Els nitrats, nitrits i fosfats es determinen mitjançant un equip de cromatografia iònica (Metrom 761-Compact IC), consistent en un injector automàtic (831 Compact Autosampler), una precolumna (A Supp5 Guard) i una columna de bescanvi aniónic (Metrosep A Supp 5-250). En la Error! No se encuentra el origen de la referencia. es presenta un cromatograma complet indicant els analits que es poden detectar.

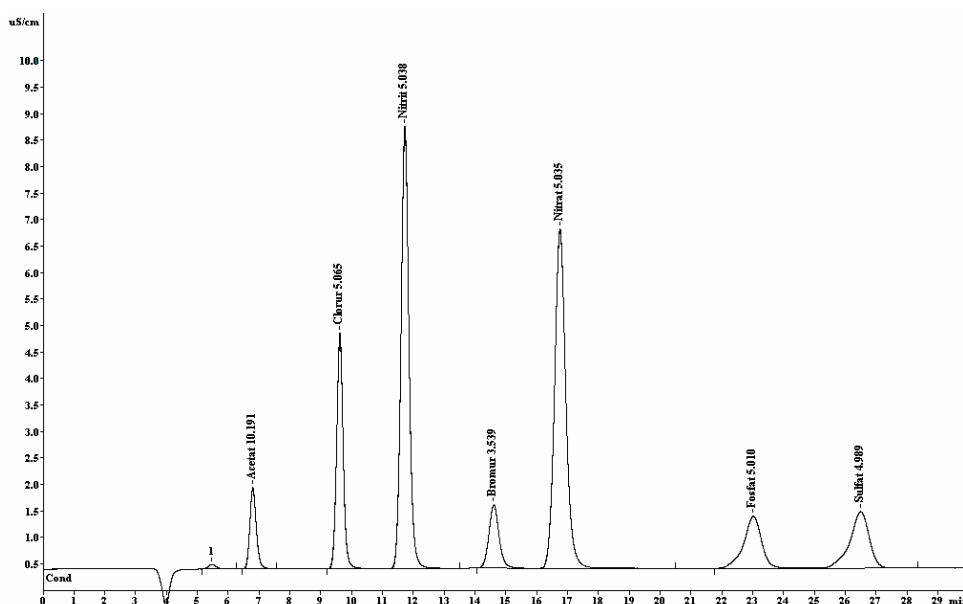


Figura 3.4. Cromatograma d'una mostra patró del cromatògraf iònic.

El mètode utilitzat requereix flux isocràtic constant, amb un tampó $\text{H}_2\text{CO}_3/\text{HCO}_3^-$ 1mM:3.2mM. El flux de fase mòbil és de $0.7 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, el volum del loop d'injecció és de $20 \mu\text{m}$, la pressió màxima i mínima de treball són 14.5 MPa i 0.3 MPa, respectivament. La conductivitat màxima permesa és de $50 \mu\text{S}/\text{cm}$. En aquestes condicions, el temps de retenció dels nitrats és d'entre 12 i 13 minuts, dels nitrats de 19 minuts i dels fosfats de 24 minuts.

Els reactius utilitzats són els que es mostren a continuació:

- Fase Mòbil ($\text{H}_2\text{CO}_3/\text{HCO}_3^-$): Es pesen 0.678 g Na_2CO_3 i 0.168 g NaHCO_3 en 2 litres d'aigua milli-Q (1mM Na_2CO_3 i 3.2mM NaHCO_3) i s'afegeix 4 ml d'acetonitril. Es filtra la solució a $0.2 \mu\text{m}$ per evitar obturacions de l'aparell.
- Solució àcid sulfúric 20mM: Es dilueixen 3 mL d'àcid sulfúric concentrat en 1L d'aigua milli-Q.
- Aigua mili-Q

Recta de calibrat:

Es preparen diferents patrons entre 0.2 i $25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ amb les mescleres de tots els anions que es poden detectar amb la columna a partir d'una solució concentrada de $100 \text{ mg N} \cdot \text{L}^{-1}$. Aquestes mostres s'injecten al cromatògraf iònic, per obtenir així la relació entre l'àrea del pic i la concentració que quedarà registrada en el programa. Cal punxar els patrons a la columna cada vegada que es canviï la fase mòbil.

Procediment:

En primer lloc, es preparen les diverses solucions. Es realitza una purga de la fase mòbil per extreure les bombolles d'aire que pugi haver-hi en el conducte. Es deixa circular fase mòbil per netejar i estabilitzar la columna i quan s'ha estabilitzat la pressió de la columna es passen els patrons i les mostres. Cal esmentar que les mostres cal que estiguin filtrades a $0.2\ \mu\text{m}$ i que no continguin una matèria orgànica superior a $300\ \text{mg O}_2\cdot\text{L}^{-1}$, sinó caldrà diluir la mostra.

Un cop finalitzat l'anàlisi de les mostres es col·loca un vial amb aigua mili-Q per netejar i estabilitzar la columna. La columna sempre s'ha de guardar amb la fase mòbil, no es pot assecar o s'esquerdaria.

Càlculs de la determinació d'anions:

El programa realitza automàticament una recta de calibrat a partir de la concentració dels patrons i la seva àrea. La concentració de les mostres es determina per interpolació a la recta. La concentració de nitrats i nitrats es dóna en $\text{mg N}\cdot\text{L}^{-1}$ i la de fosfats en $\text{mg P}\cdot\text{PO}_4^{3-}$.

3.2.9 Determinació del fòsfor total (PT)

El fòsfor total és la suma dels fosfats i el fòsfor orgànic present a les aigües. El mètode de determinació es basa en una digestió àcida que oxida tot el fòsfor a fosfats. Posteriorment es realitza una anàlisi espectrofotomètrica amb el mètode de l'àcid ascòrbic, en el qual una solució de molibdat i ascòrbic dóna una coloració blavosa a les solucions que contenen fosfats.

Els reactius utilitzats per a l'anàlisi del fòsfor total són els que es presenten a continuació:

- Aigua MilliQ
- Àcid sulfúric concentrat, 5N i 0'1M
- Hidroxid sòdic concentrat (40%), 1M i 0,1 M
- Reactiu combinat: mesclar la solució de tartrat (diluir 0,1454 g de tartrat en 100mL), la de molibdat (diluir 6,0g de molibdat en 250mL i filtrar), 500ml de sulfúric 5N i arrasar a 1L. Aquesta solució es guarda en una ampolla de *vidre opac i a la nevera*.
- Peroxodisulfat sòdic 500 g/L (catalitzador de reacció)
- Dilució d'àcid ascòrbic [diluir 0,4g d'àcid ascòrbic en 20 ml de reactiu combinat; *preparar al moment d'utilitzar*]
- Patrons: A partir de potassi fosfat monobàsic (KH_2PO_4) assecat a l'estufa, preparar solucions entre el rang de 1 – 20 $\text{mg P}\cdot\text{L}^{-1}$.

Procediment:

Tan les mostres com els patrons com el blanc (aigua milli-Q) rebran el mateix tractament durant l'anàlisi. Per a la digestió es prenen 5 mL de mostra o patró, 1 mL de sulfúric concentrat i 1 mL de peroxodisulfat en un tub tapat amb teflón i tap de rosca i es posen al digestor a 150°C durant dues hores (o fins a disgregar la mostra). Un cop s'han refredat les mostres, neutralitzar-les amb sosa fins a un pH al voltant de 4 i arrasar-les a 20 mL amb aigua milli-Q.

Per a la lectura espectrofotomètrica, agafar 1mL de cada mostra, afegir dues gotes de sulfúric 0.1M i arrasar a 10 mL amb aigua milli-Q. Afegir 1 mL de dilució d'àcid ascòrbic i fer la lectura després de 15 minuts de repòs a 880 nm.

El resultat de la mostra s'obté interpolant el valor de l'absorbància a la recta patró realitzada amb les solucions estàndard.

3.2.10 Determinació del carboni orgànic total (TOC)

L'anàlisi del carboni total (TC), el carboni inorgànic (IC) i el carboni orgànic total (TOC) es determina mitjançant un sistema format per un aparell TOC-V CSH (Shimadzu) i un mostrejador automàtic ASI-V (Shimadzu), que basa el seu funcionament en el principi bàsic de la "combustió oxidativa-quimioluminescent".

La determinació del TC es produeix a través d'una oxidació catalítica a 680 °C. Conseqüentment, els components de TC de la mostra es converteixen en CO₂, que és arrossegat per un flux de gas portador. Després de ser deshumidificat i deshalogenat, s'analitza mitjançant un detector infraroig (NDIR).

La determinació de l'IC es produeix acidificant la mostra amb H₃PO₄ de tal manera que tot l'IC es converteix a CO₂, que és arrossegat pel gas portador fins a detector NDIR.

El TOC es calcula pel mètode per diferència, és a dir, com la resta entre el TC i l'IC.

Els reactius utilitzats són els que es mostren a continuació:

- Solucions estàndard de TC: Es dissolen 2.125 g d'hidrogen ftalat de potassi en un litre d'aigua Milli-Q. La solució obtinguda té una concentració de 1000 mg C·L⁻¹. Cal preparar dilucions de 10 i 100 mg C·L⁻¹ de TC perquè durant el mètode de calibració l'aparell fa les corresponents dilucions fins arribar a un rang de 0.5 a 1000 mg C·L⁻¹.

- Solucions estàndard de IC: Es dissolen 3.5 g d'hidrogen carbonat de sodi (NaHCO_3) en un litre d'aigua Milli-Q. La solució obtinguda té una concentració de $1000 \text{ mg C} \cdot \text{L}^{-1}$. Cal preparar dilucions de 10, 100 i $800 \text{ mg C} \cdot \text{L}^{-1}$ de TC perquè durant el mètode de calibració l'aparell fa les corresponents dilucions fins arribar a un rang de 0.5 a $800 \text{ mg C} \cdot \text{L}^{-1}$.
- Solució d' H_3PO_4 al 25%: Es prepara a partir d'àcid orto-fosfòric al 85% i té la funció d'acidificar el carboni inorgànic present en les mostres i oxidar-lo a CO_2 .
- Aigua de dilució i de neteja: Es tracta d'aigua Milli-Q que s'utilitza, tant per la neteja de la xeringa i l'agulla, com per realitzar dilucions de mostres que no entren dins el rang de calibrat.

Procediment:

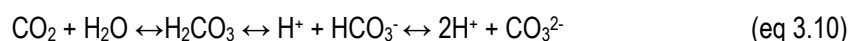
En primer lloc, cal preparar les mostres, filtrant-les a $0.45\mu\text{m}$. Seguidament s'ha de definir la seqüència de mostres a analitzar, procurant analitzar les mostres de menys a més concentrades. Sempre que això no sigui possible caldrà intercalar vials de neteja entre les mostres, per tal d'evitar possibles errors en els resultats. Al principi i al final de la cua de mostres també s'hi posen vials amb aigua Milli-Q, com a neteges prèvies i finals.

Abans d'iniciar l'anàlisi cal comprovar el nivell dels reactius i l'estat dels detectors de l'equip i la línia de base. Un cop comprovat que tot és correcte, s'inicia l'anàlisi.

Un cop analitzada la mostra, els resultats es mostren al programa en $\text{mg C} \cdot \text{L}^{-1}$ agafant com a referència els valors obtinguts a la recta patró, la qual només cal repetir periòdicament quan els errors de l'anàlisi no són acceptables.

3.2.1.1 Determinació de l'alcalinitat

L'alcalinitat o capacitat quantitativa de l'aigua per a neutralitzar un àcid (APHA, 1995) es determina per valoració de la mostra amb una àcid fort (HCl 0,1N), mitjançant dos punts d'equivalència (a pH 8,2 i 4,3). Aquesta alcalinitat és causada per la presència d'ions carbonat (CO_3^{2-}) i bicarbonat (HCO_3^-) associats a cations Na^+ , K^+ , Ca^{2+} i Mg^{2+} , principalment. L'alcalinitat estarà expressada en $\text{mg CaCO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$. A l'Equació 3.10 es pot observar els equilibris entre les diferents espècies carbonatades:



Procediment:

Per determinar l'alcalinitat a l'entrada (aliment sintètic) del reactor s'ha utilitzat un valorador automàtic (Titrino 719S Metrohm) i un registrador (Citizen IDP 460 RF).

En un vas de precipitats de 250 ml s'hi posen 75 mL d'aigua destil·lada més un volum de 25 mL de mostra i es valora la solució amb HCl 0,1 N estandarditzat. El mateix procediment es fa servir per a preparar el blanc, només que el volum de mostra que s'agafi serà en aquest cas aigua destil·lada.

L'alcalinitat total expressada en mg $\text{CaCO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$ es calcula segons l'equació 3.11.

$$\text{mg}_{\text{CaCO}_3} \cdot \text{L}^{-1} = \frac{(A - B) * 1000 * 50}{V_{\text{mostra}}} * N_{\text{HCl}} \quad (\text{eq 3.11})$$

on $\text{mg}_{\text{CaCO}_3} \cdot \text{L}^{-1}$ = Alcalinitat total

N_{HCl} = Normalitat trobada en l'estandardització de l'àcid clorhídric 0.1N ($\text{eq} \cdot \text{L}^{-1}$)

A = volum d'àcid clorhídric gastat en la valoració de la mostra (mL).

B = volum d'àcid clorhídric gastat en la valoració del blanc (mL).

V_{mostra} = volum de mostra agafat (mL).

3.3 Tècniques microbiològiques (FISH)

La tecnologia FISH (Fluorescence in situ hybridization) és una tècnica microbiològica que permet el reconeixement o l'estimació quantitativa de determinades espècies microbianes en front a d'altres. El fonament d'aquest procés és introduir un oligonucleòtid (cadena curta d'àcids nucleics) amb propietats fluorescentes a l'interior d'un bacteri i formar associacions estables amb els RNA del ribosoma, de manera que al observar la mostra amb un microscopi làser confocal o d'epifluorescència, es distingeixin les espècies híbrides de la resta. Tot el procés FISH s'ha realitzat seguint la metodologia descrita per Amman (1995) en el laboratori del LEQUIA - UdG i amb col·laboració del laboratori de microbiologia de la Universitat de Girona.

Les sondes utilitzades, que són les substàncies usades per hibridar els microorganismes, específiques per al procés d'eliminació de fòsfor són les EUBMIX (mescla de sondes EUB338I, EUB338II, EUB338III) marcades amb el fluorocrom Cy5 i que identifiquen tots els bacteris, les PAOMIX (mescla de les sondes PAO462, PAO651 i PAO846) marcades amb el fluorocrom Cy3 per identificar els bioacumuladors de fòsfor, i una mescla de diverses sondes per a GAOs marcades amb el fluorocrom Fluos i descrites per Puig *et al.* (2007c).

Per altra banda, les sondes específiques per al procés de nitrificació són les EUBMIX per a tots els bacteris, la NSO1225 marcada amb Fluos i que determina la presència d'AOB i les NIT3 i Ntspa662 marcades amb Cy3 (utilitzades conjuntament amb CompNIT3 i CompNtspa662) per a la determinació de NOB.

El procediment de la tecnologia FISH consta de tres parts importants: fixació de la mostra, hibridació de la mostra i visualització i quantificació, les quals s'expliquen a continuació.

3.3.1 Fixació de la mostra

La fixació de la mostra s'utilitza per a parar l'activitat microbiana i poder conservar una mateixa mostra durant tres mesos a -20°C. Per a poder realitzar aquest pas cal preparar *in situ* el tampó de fixació, el qual es prepara amb 40 mL d'aigua milli-Q escalfada a 60°C, 2 g de paraformaldehid (PFA) i 150 µL de NaOH 1M i 5 mL de PBS 10X (NaCl 1.3 M, Na₂HPO₄ 70 mM i NaH₂PO₄ 4H₂O 30 mM ajustat a pH 7.2) tot ajustat a pH 7.2 i arrasat a 50 mL. Aquesta solució cal que es prepari sota campana, ja que el PFA és altament tòxic.

Procediment:

En un eppendorf de 2 mL afegir 0.5 mL de fang i 1.5 mL de tampó de fixació i deixar-ho a les fosques a una temperatura entre 0-4°C i durant un temps de 3 a 12 hores. Una vegada passat el temps, centrifugar la mostra a 8000 rpm durant 1 min, extreure el sobrenedant i rentar el fang amb PBS 1X fred. Tornar a centrifugar la mostra i rentar amb PBS 1X i finalment resuspendre el fang amb una solució PBS 1X : etanol 100% (1:1).

3.3.2 Hibridació de la mostra

Per hibridar les mostres de fang cal un portaobjectes especial per FISH amb un film de gelatina i els tampons d'hibridació i neteja, els quals s'especifiquen a continuació.

- Portaobjectes amb gelatina: en una solució calenta de gelatina al 0.1% (0.05 g gelatina en 50 mL + 80 µL de KCr(SO₄)₂ al 10%) s'introdueix el portaobjectes net durant uns segons. S'extreu el portaobjectes de la solució i es deixa assecar verticalment.

- Tampó d'hibridació: en un eppendorf de 2 mL s'afegeixen 360 μ L de NaCl 5M, 40 μ L de TRIS/HCl 1M a pH 8, 4 μ L de SDS 10% i 700 μ L de formamida per obtenir una concentració del 35% (especifica per a les sondes utilitzades). S'arrasa a 2 mL amb aigua milli-Q.
- Tampó de neteja: en un falcon de 50 mL s'afegeix 1 mL de TRIS/HCl 1M a pH 8, 800 μ L de NaCl 5 M, 500 μ L EDTA 0.5M a pH 8 i 50 μ L de SDS 10%. Mantenir el tampó a 48°C. Les concentracions usades són específiques pel % de formamida utilitzat en el tampó d'hibridació.

Procediment:

Per a la hibridació de les mostres de fang, cal posar 6 μ L de mostra fixada a cada pouet i assecar 10 minuts a 46°C. Posteriorment cal deshidratar la mostra seqüencialment en etanol al 50, 80 i 98% i finalment assecar-ho a temperatura ambient. Un cop la mostra és seca s'afegeixen 10 μ L de tampó d'hibridació a cada pouet i s'aplica una quantitat de sonda entre 20 – 25 ng per pouet. Cal planificar quina sonda s'hibrida en cada pouet, ja que no es poden observar bacteris diferents amb un mateix fluorocrom perquè el senyal es solaparia.

Una vegada aplicades les sondes cal incubar les mostres durant 1.5 h a 46°C dins una cambra d'incubació. Finalment s'introdueix el portaobjectes en el tampó de neteja a 48°C entre 10-20 minuts i es renta amb una mescla de milliQ : etanol (1:1) i s'asseca a temperatura ambient.

3.3.3 Visualització i quantificació de les mostres

Per tal de visualitzar els resultats de la hibridació, s'han d'observar les mostres en un microscopi d'epifluorescència o un microscopi laser confocal, ja que són els únics que poden excitar la sonda perquè emeti el senyal. Les mostres del present estudi es van analitzar en el Servei de Microscòpia de la UAB amb un microscopi laser confocal de la casa Leica. Aquest tipus de microscopi és més recomanat per a matrius complexes com els fangs de depuradora, ja que permet la visualització dels senyals a diferents capes en l'eix z de la mostra. A més a més, la utilització del làser dona millor resolució que un microscopi d'epifluorescència.

La quantificació de les diferents poblacions microbianes es va realitzar utilitzant un programa propi desenvolupat en base al programa Matlab®, el qual fa un tractament de les imatges a partir dels seus colors per a obtenir el percentatge estimat per a cada organisme, prenen com a base de càlcul la població total de bacteris.

3.4 Metodologia

El reactor SBR ubicat al la Universitat de Girona es va inocular el 3 de març de 2005. Els fangs procedien de la depuradora de Sils-Vidreres i presentaven una concentració aproximada de 2.7 g SST·L⁻¹ a volum màxim del reactor.

Amb una freqüència de dos o tres cops a la setmana, es prenen mostres del procés, intentant sempre no coincidir amb el mateix dia en el qual es preparava l'aliment sintètic. Les mostres de l'influent i l'efluent de l'SBR eren pre-tractades per a realitzar-ne anàlisis de DQO, DQO_s, TKN, alcalinitat, amoni, nitrats, nitrits, fosfats i periòdicament es realitzaven DBO₅ i TOC/IC de les mostres d'aigua. El mateix dia que es mostrejava l'aigua tractada del reactor es feien sòlids totals i volàtils de l'entrada, del reactor a volum màxim, de la purga i de la sortida. A més a més, d'aquests dos últims se'n mesurava el volum per a poder calcular el temps de residència cel·lular.

L'SBR del LEQUIA - UdG és una planta pilot totalment automatitzada, la qual pot treballar les 24 hores del dia els 365 dies de l'any contínuament. Tot i això, el bon funcionament de qualsevol sistema està definit pel manteniment que se'n fa, per tant, periòdicament calia calibrar les sondes del reactor, netejar les gomes que connecten el reactor amb els seus perifèrics (tanc d'alimentació, sortida i purga) i canviar-les quan calgués, així com també calibrar els cabals de les bombes peristàtiques.

El programa de control i monitorització de la planta pilot permetia, d'una manera aproximada, conèixer el comportament del sistema gràcies a la representació gràfica dels valors de les sondes. D'aquesta forma es podia detectar de manera ràpida qualsevol problema de procés. L'emmagatzament de les dades obtingudes també ha estat una molt bona eina per al posterior tractament i anàlisi del sistema a partir dels valors de pH, temperatura, oxigen dissolt i potencial RedOx.

Des de la inoculació dels fangs, el reactor SBR va estar treballant amb la mateixa composició d'aliment i amb cicles de 8 hores (3 cicles/dia) encarats a l'eliminació biològica de matèria orgànica, nitrogen i fòsfor. La divisió de l'estudi en dos grans blocs es produeix per un canvi en la configuració de treball del sistema el qual s'enfoca al fang granular.

El primer bloc d'eliminació de C, N i P amb fangs actius va tenir una durada de 671 dies, els quals es separen en tres períodes segons la càrrega aplicada en el reactor. Durant aquesta part de l'estudi l'SBR va treballar amb una configuració d'step-feed de tres o dues alimentacions segons els resultats obtinguts i un temps de sedimentació d'aproximadament 40 minuts.

El segon bloc d'eliminació de C, N i P amb fang granular va tenir una durada de 120 dies, els quals es divideixen en dos períodes, un per la disminució de la sedimentació i l'altre per l'estabilització del sistema. Durant aquest bloc d'estudi l'SBR va treballar amb una configuració d'step-feed de dues alimentacions i una fase de sedimentació de 2 minuts.

3.4.1 Assaig de l'evolució d'espècies químiques del cicle de treball de l'SBR

El mostreig periòdic de l'influent i l'efluent del reactor SBR aportava informació sobre l'eficiència del sistema i, el seguiment de les espècies analítiques de la sortida donava la tendència del procés, però per a conèixer el correcte funcionament dels microorganismes presents en els fangs activats es van realitzar diversos estudis de l'evolució de les espècies analítiques en fases determinades del cicle de treball o durant les 8 hores que durava un cicle complet. El mostreig general que es prenia en aquests tipus d'estudis es presenta a la Taula 3.3.

| Taula 3.3. Planificació de mostreig en estudis d'evolució d'espècies analítiques del cicle de treball de l'SBR | | |
|--|------------------------|--|
| Fase | Freqüència de mostreig | Analítiques |
| Aliment | 1 | DQO, DQO _s , TKN, NH ₄ ⁺ , NO _x ⁻ , PO ₄ ³⁻ , PT, TOC, IC, SST, SSV |
| Omplerta | Inicial i Final | NH ₄ ⁺ , NO _x ⁻ , PO ₄ ³⁻ , TOC, IC |
| Anaeròbia | Cada 30 min | NO _x ⁻ , PO ₄ ³⁻ , TOC, IC |
| Anòxica | Cada 20 min | NO _x ⁻ , PO ₄ ³⁻ , TOC, IC |
| Aeròbia | Cada 20-25 min | NH ₄ ⁺ , NO _x ⁻ , PO ₄ ³⁻ |
| Purga | 1 | SST, SSV |
| Sedimentació | Inicial | NH ₄ ⁺ , NO _x ⁻ , PO ₄ ³⁻ , TOC, IC |
| Reactor(V _{max}) | 1 | SST, SSV |
| Sortida | Final | DQO _s , TKN, NH ₄ ⁺ , NO _x ⁻ , PO ₄ ³⁻ , PT, TOC, IC, SST, SSV |

L'estudi de les fases del reactor es completava amb les dades on-line obtingudes de les sondes, les quals relacionaven les tendències de pH, OD i RedOx amb els perfils analítics obtinguts.

3.4.2 Assaig en batch per a l'estudi de poblacions PAO / DPAO

L'assaig per a la determinació de la presència de DPAO en el sistema SBR es va realitzar seguint les pautes de la bibliografia (Tsuneda *et al.*, 2006; Wachtmeister *et al.*, 1997). El procés constava en agafar dues alíquotes del mateix fang del reactor SBR i posar-les sota condicions anaeròbies amb presència de

matèria orgànica durant 3.5h. Passat aquest temps s'aplicaven condicions aeròbies a una de les alíquotes, afegint aire, i condicions anòxiques a la segona, afegint nitrats. La fotografia de la Figura 3.5. mostra el sistema d'operació durant l'estudi.



Figura 3.5. Fotografia de l'estudi PAO/DPAO realitzat en batch

L'aliment sintètic preparat per afegir a l'inici de l'experiment era una mescla d'acetat com a font de carboni, fosfats i nutrients. El seguiment de l'estudi es va realitzar amb l'anàlisi de nitrats i fosfats amb una freqüència menor a l'inici de les fases i més espaiada a mesura que avançava el temps. Finalment, el percentatge de DPAOs respecte els PAOs es calculava per les velocitats específiques de captació del fòsfor en fase aeròbia i anòxica, com es mostra en l'apartat de resultats d'aquest treball.

4 RESULTATS

L'estudi de l'eliminació biològica de matèria orgànica, nitrogen i fòsfor de forma simultània ha estat la columna vertebral d'aquest treball experimental. L'aplicació de la tecnologia SBR com a alternativa a les configuracions més convencionals s'ha dut a terme amb fangs activats, estudiant-ne les configuracions de cicle més adients per a l'eliminació de matèria orgànica i nutrients. Posteriorment, s'ha realitzat l'estudi de la formació del fang granular, una metodologia emergent (Cassidy i Belia, 2005; De Kreuk *et al.*, 2005; Liu *et al.*, 2005; Qin i Liu, 2006). A continuació s'exposen els resultats obtinguts amb ambdues metodologies.

4.1 Eliminació de C, N i P mitjançant la tecnologia SBR

El reactor SBR va operar amb fangs actius durant aproximadament 22 mesos amb la finalitat d'eliminar matèria orgànica, nitrogen i fòsfor. Les dades obtingudes s'han dividit en tres grans períodes per tal de facilitar-ne la comprensió segons les condicions d'operació que es mostren a la Taula 4.1.

Període 1. Amb una durada de 140 dies, aquest primer període es basa en la inoculació de fangs de depuradora convencional i l'adaptació d'aquests a l'eliminació simultània de C, N i P.

Període 2. Durant aquest període de 41 dies es va augmentar el cabal d'aigua a tractar i es va estudiar l'estabilització del procés.

Període 3. Aquest és el període més llarg amb 490 dies, en el qual es va aplicar una relació de canvi més elevada, se'n va estudiar l'evolució de les espècies i es van aplicar mesures correctores fins a l'estabilització del procés.

Taula 4.1. Condicions mitjanes d'operació de l'SBR durant els diferents períodes de treball amb fangs actius.

| Paràmetre | Descripció | Període 1 | Període 2 | Període 3 | Unitats |
|-----------|--|-----------|-----------|-------------|-------------------|
| Durada | Nombre de dies que va durar el període | 140 | 41 | 490 | d |
| Q_i | Cabal de l'influent | 17 | 19.4 | 32.4 | L d ⁻¹ |
| TRH | Temps de residència hidràulic | 1.3 | 1.2 | 0.8 | d |
| TRC | Temps de residència cel·lular | 21 | 21 | 17 | d |
| V_T | Volum màxim del reactor | 21.7 | 22.5 | 27 | L |
| R_E | Relació de canvi | 0.26 | 0.29 | 0.40 | - |
| Fase ANA | % fase anaeròbia sobre el temps de cicle (t_c) | 46.5 | 46.5 | 35.2 – 44.1 | % |
| Fase AER | % fase aeròbia sobre el temps de cicle (t_c) | 30.5 | 30.5 | 41.8 – 32.9 | % |

Durant els diferents períodes d'operació es van realitzar diferents perfils analítics amb la finalitat de conèixer l'evolució de les espècies químiques en cada cicle de treball del reactor. A més a més, periòdicament es van realitzar anàlisis microbiològiques que complementarien la informació de l'evolució del sistema de fangs activats.

4.1.1 Període 1

El reactor SBR de 30 L fou inoculat el 3 de març del 2005 amb fangs procedents de la depuradora Sils-Vidres, la qual té una configuració per eliminar matèria orgànica i nitrogen. El cicles de treball amb els quals es va començar a operar la planta eren de 8 hores amb tres alimentacions. El 50 % del volum total a tractar s'introduïa a la primera alimentació i la resta es repartia en les dues següents, tal i com es mostra en la configuració del cicle de la Figura 4.1., la qual es divideix en unes primeres fases anaeròbia-aeròbia per a l'eliminació de fòsfor usant etanol com a matèria orgànica (Puig *et al.*, 2007b), i la resta de fases per a l'eliminació del nitrogen.

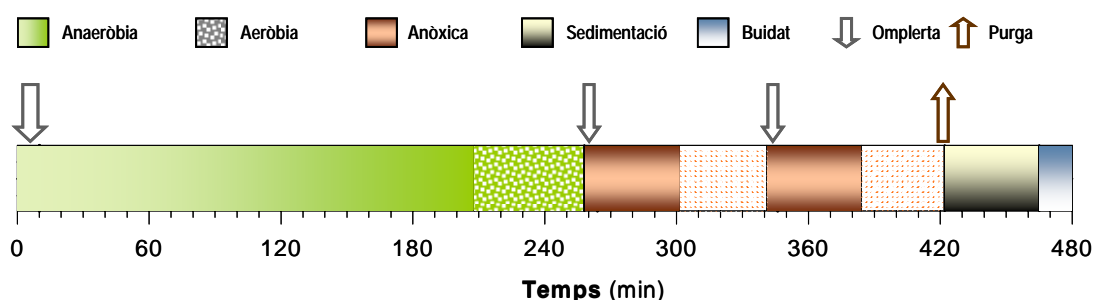


Figura 4.1. Configuració del cicle de treball de l'SBR durant el primer període d'estudi.

Durant els 140 dies d'operació del primer període el reactor SBR va estar treballant amb la finalitat d'eliminar el carboni, el nitrogen i el fòsfor de l'aliment sintètic. Les concentracions mitjanes de matèria orgànica i nutrients de l'aigua residual d'aquest període, a més a més de la càrrega mitjana aplicada al sistema, es mostren a la Taula 4.2.

| Taula 4.2. Càrregues i concentracions mitjanes de matèria orgànica, nitrogen i fòsfor aplicades durant el període 1. | | | | |
|--|-------------------------|---------------|-------------|---------------------------------------|
| Paràmetre | Matèria Orgànica DQO | Nitrogen N | Fosfor P | Unitats |
| Càrrega mitjana aplicada | 0.39 | 0.06 | 0.005 | Kg · m ⁻³ ·d ⁻¹ |
| Concentració mitjana a l'influent | 490 | 74.6 | 6.03 | mg · L ⁻¹ |

El funcionament de l'SBR durant tot el període 1 es troba representat en la Figura 4.2. en la qual es mostra l'evolució de la matèria orgànica (DQO), el nitrogen en les diferents formes que presenta (N_{TOT} , NH_4^+ i NO_3^-) i el fòsfor (PO_4^{3-}) tan en l'influent com en l'efluent del reactor.

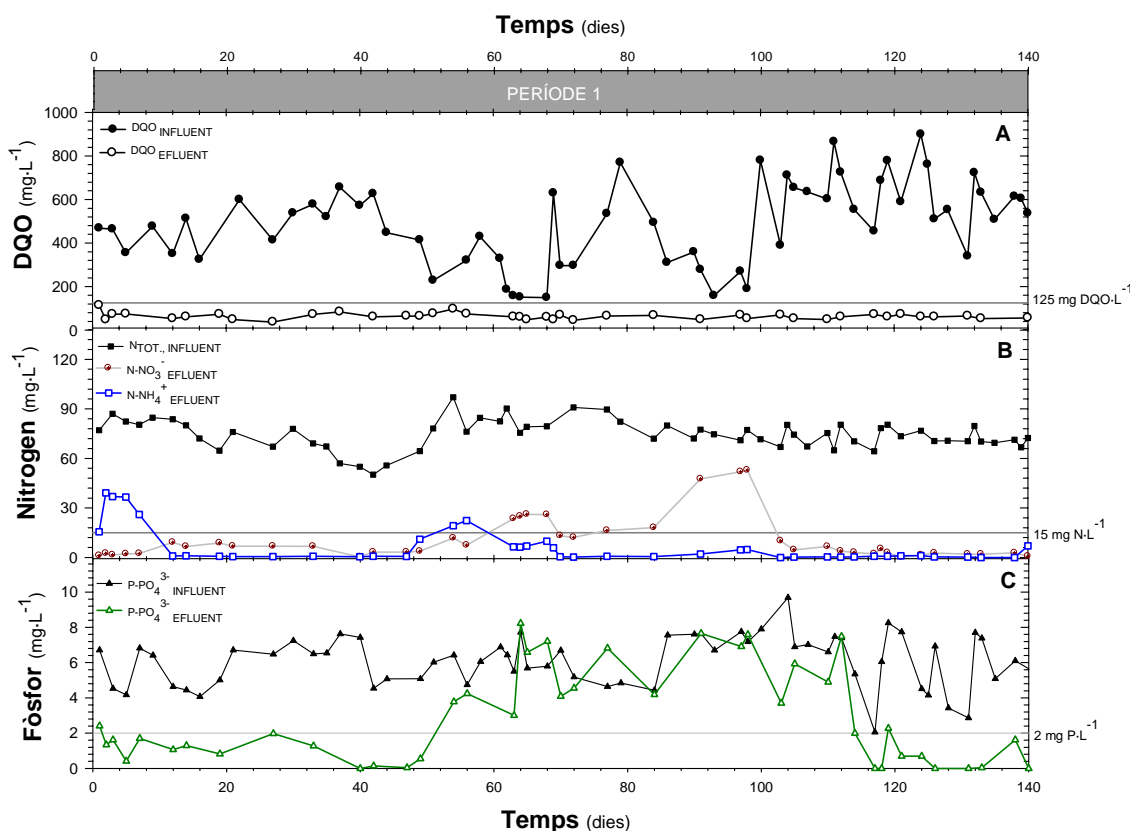


Figura 4.2. Evolució de la matèria orgànica en forma de DQO(A), del nitrogen en forma de nitrogen total (N_{TOT}), amoni (NH_4^+) i nitrat (NO_3^-) (B) i del fòsfor en forma de fosfats (C) durant el període 1. Els límits d'abocament per a cada espècie es basen en la Directiva Europea 91/271/CEE.

Com es pot veure en la Figura 4.2., al cap de 15 dies d'haver inoculat els fangs en el reactor, tan la matèria orgànica, el nitrogen com el fòsfor es mantenen per sota els límits d'abocament (61 mg O₂·L⁻¹; 7.6 mg N·L⁻¹; 1.3 mg P·L⁻¹). Aquesta estabilitat es va mantenir fins el dia 50 on s'observà una davallada de la matèria orgànica a l'influent que va produir una disminució de la relació C/P de l'aliment, arribant al valor mínim al dia 64 (15 g COD·g⁻¹P), així com també de la relació C/N (2 g COD·g⁻¹TKN). La primera conseqüència que se'n va observar va ser una pèrdua en l'eficiència de l'eliminació del fòsfor, ja que l'aparició de nitrats a l'efluent va provocar la competència dels PAOs i els microorganismes desnitrificants, els quals captaven la font de carboni per eliminar els nitrats presents a l'aigua, implicant la captació de matèria orgànica per part dels organismes acumuladors de fòsfor. Posteriorment, a partir del dia 64, es va produir una disminució major de la DQO de l'influent, fet que va provocar també la pèrdua de la desnitrificació. Així doncs, un cop recuperada l'aportació de matèria orgànica (dia 100), augmenta l'eficiència de la desnitrificació i seguidament la de l'eliminació biològica del fòsfor.

El procés es va mantenir estable des del dia 122 fins al final del període, pel que es va concloure que l'eliminació biològica de nutrients es pot aconseguir utilitzant un sol reactor, obtenint a més a més eficiències del 94%, 95% i 98% per l'eliminació del carboni, el nitrogen i el fòsfor, respectivament, i amb concentracions de l'ordre de $63 \text{ mg O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$, $2.3 \text{ mg N} \cdot \text{L}^{-1}$, $0.5 \text{ mg P} \cdot \text{L}^{-1}$. Tot i això, cal tenir en compte que relacions C/P per sota de 36 g COD/g P poden afectar negativament l'eliminació del fòsfor i poden potenciar el desenvolupament dels competidors dels PAOs (els GAOs) (Puig *et al.*, 2007a). L'ús d'un aliment sintètic sense àcids grassos volàtils també és un fet remarcable en aquest estudi, ja que l'etanol com a font de carboni en un sistema biològic estable produeix un increment de la població de bioacumuladors de fòsfor en front als seus competidors (Puig *et al.*, 2007b).

4.1.2 Període 2

L'estabilització del procés d'eliminació de nutrients a baixa càrrega en el primer període ($0.36 \text{ kg COD} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$; $0.06 \text{ kg N} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$; $0.005 \text{ kg P} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$) va plantejar l'estudi del comportament del reactor SBR quan se li aplica una relació de canvi major. Així doncs, durant els 41 dies d'estudi del període 2, la planta va estar treballant a un cabal de $19.4 \text{ L} \cdot \text{d}^{-1}$ amb un volum màxim de 22.5 L . La Taula 4.3. mostra les càrregues mitjanes i les concentracions de matèria orgànica i nutrients de l'aigua durant el segon període.

| Taula 4.3. Càrregues i concentracions mitjanes de matèria orgànica, nitrogen i fòsfor aplicades durant el període 2. | | | | |
|--|------------------|----------|--------|---|
| Paràmetre | Matèria Orgànica | Nitrogen | Fòsfor | Unitats |
| | DQO | N | P | |
| Càrrega mitjana aplicada | 0.43 | 0.06 | 0.005 | $\text{Kg} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$ |
| Concentració mitjana a l'influent | 497 | 71.2 | 5.37 | $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ |

Durant els 41 dies que va durar aquest període, tot i haver augmentat el volum tractat d'aigua per cicle i, per tant, haver disminuït el TRH de 1.3 a 1.2 dies, es van mantenir les mateixes condicions de treball que en el període anterior, en el qual es treballava amb un cicle enfocat a l'eliminació del fòsfor i el nitrogen amb una edat cel·lular dels fangs (TRC) de 21 dies. Els resultats obtinguts durant aquest període es troben representats en la Figura 4.3.

La velocitat màxima de creixement pels nitrificants és un dels paràmetres més crítics en el disseny dels sistemes biològics d'eliminació de nutrients (Keller *et al.*, 1997). Per aquesta raó és molt important mantenir l'edat cel·lular dels fangs per tal que els nitrificants puguin créixer dins el sistema. En el cas del període 2 el TRC aeròbic ($\text{TRC} \cdot \% \text{ fase aeròbia}$) és de 6.4 dies i el rang òptim de treball segons Metcalf

& Eddy (2003) a una temperatura ambient (20°C) és de 4 a 7 dies. Així doncs, és molt important controlar el procés de nitrificació ja que és el més inestable segons les taxes de creixement dels microorganismes.

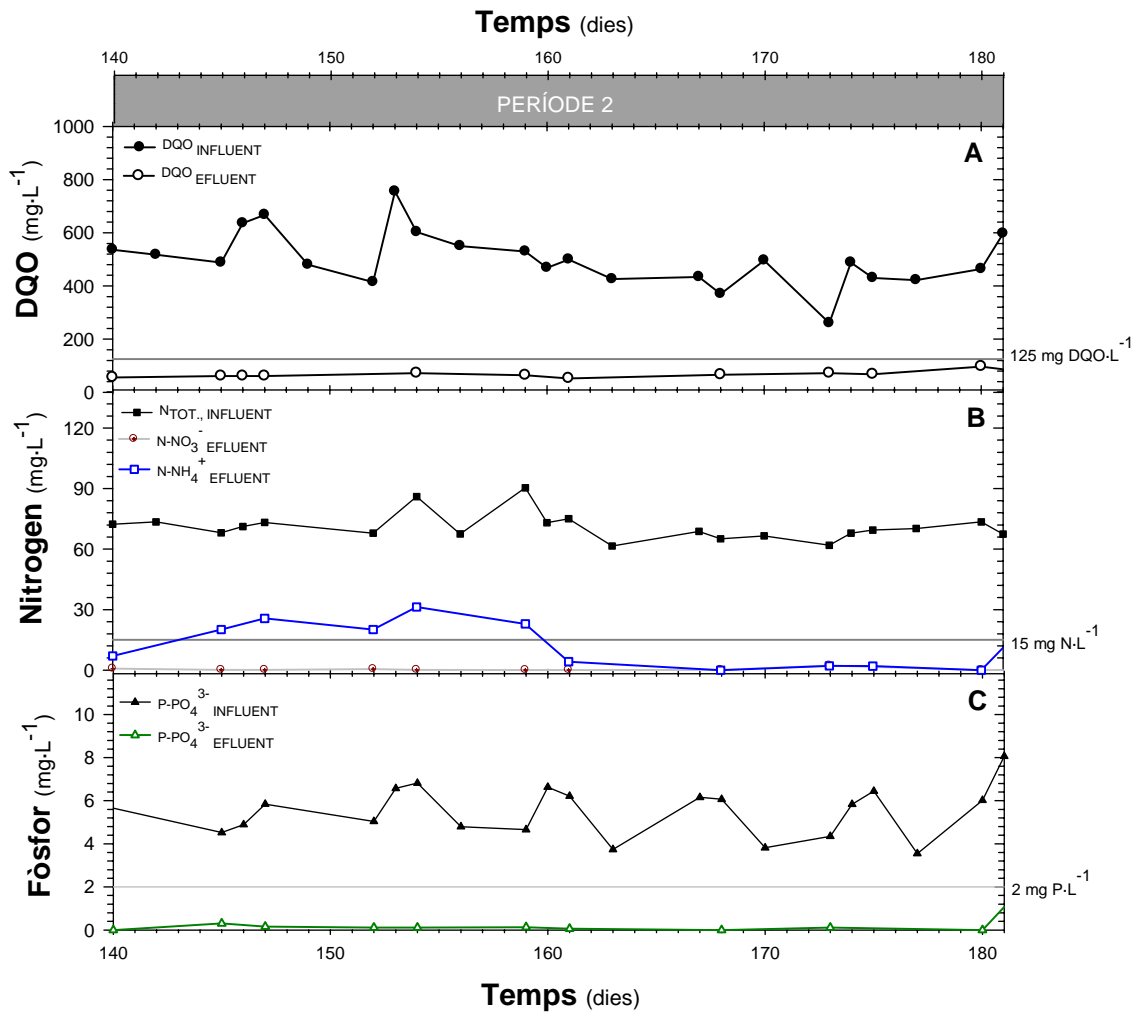


Figura 4.3. Evolució de la matèria orgànica en forma de DQO(A), del nitrogen en forma de nitrogen total (N_{TOT}), amoni (NH₄⁺) i nitrat (NO₃⁻) (B) i del fòsfor en forma de fosfats (C) durant el període 2. Els límits d'abocament per a cada espècie es basen en la Directiva Europea 91/271/CEE.

Observant les dades del període 2 (Figura 4.3) es veu com quan s'augmenta el cabal en el reactor SBR, la nitrificació és l'únic procés que es desestabilitza, arribant a una concentració de 31 mg N·L⁻¹. Tot i això, com que les condicions de creixement dels bacteris nitrificants estan dins el rang dels valors teòrics, l'amoni a la sortida s'estabilitza per sota de 15 mg N·L⁻¹ després dels primers 20 dies.

Finalment, després d'haver augmentat la relació d'intercanvi de 0.26 a 0.29, el procés d'eliminació biològica de nutrients es manté estable amb poc més de dues setmanes, obtenint unes eficiències del 86%, 91% i 99% per a l'eliminació del carboni, el nitrogen i el fòsfor, respectivament i unes concentracions a l'efluent de 65 mg O₂·L⁻¹, 3 mg N·L⁻¹ i 0.04 mg P·L⁻¹.

4.1.3 Període 3

La ràpida estabilització del procés després de l'augment de cabal en el període 2 va plantejar el repte d'incrementar la càrrega aplicada per determinar la capacitat de tractament en les condicions d'operació del reactor SBR. Així doncs, en el dia 181 des de la inoculació del reactor es van aplicar les concentracions i les càrregues mostrades a la Taula 4.4.

Taula 4.4. Càrregues i concentracions mitjanes de matèria orgànica, nitrogen i fòsfor aplicades durant el període 3.

| Paràmetre | Matèria Orgànica | Nitrogen | Fòsfor | Unitats |
|-----------------------------------|------------------|----------|--------|------------------------------------|
| | DQO | N | P | |
| Càrrega mitjana aplicada | 0.7 | 0.1 | 0.01 | Kg·m ⁻³ d ⁻¹ |
| Concentració mitjana a l'influent | 562 | 80.1 | 6.82 | mg·L ⁻¹ |

Les dades obtingudes durant els més de 16 mesos en els quals es va aplicar aquesta càrrega s'han dividit en tres subperíodes, en base als canvis operacionals implementats, per tal de facilitar-ne la comprensió.

4.1.3.1 Període 3a

L'inici d'aquest període es produeix al dia 181 del procés, en el qual s'incrementa en un 41% el volum d'aigua a tractar fins a 11L, obtenint un temps de residència hidràulic aproximat de 0.8 dies. El cicle de treball, un cicle amb step-feed de tres alimentacions enfocat a l'eliminació de fòsfor i nitrogen, no es va variar respecte la resta de períodes (Fig. 4.1).

La Figura 4.4. representa l'evolució dels sòlids en suspensió volàtils, considerats com la quantitat de biomassa, juntament amb l'edat cel·lular dels fangs (A), la DQO (B), els compostos nitrogenats (C) i el fòsfor (D) durant el període 3a, que va tenir una durada de 136 dies.

L'aplicació d'una càrrega de nutrients més elevada i la baixa concentració de sòlids en suspensió dins el reactor (al voltant de 1400 mg SST·L⁻¹, Figura 4.4.A) va causar una desestabilització del procés de nitrificació, mantenint un remenent d'amoni de 52 mg N·L⁻¹ a l'efluent durant tot el període 3a (Figura 4.4.C).

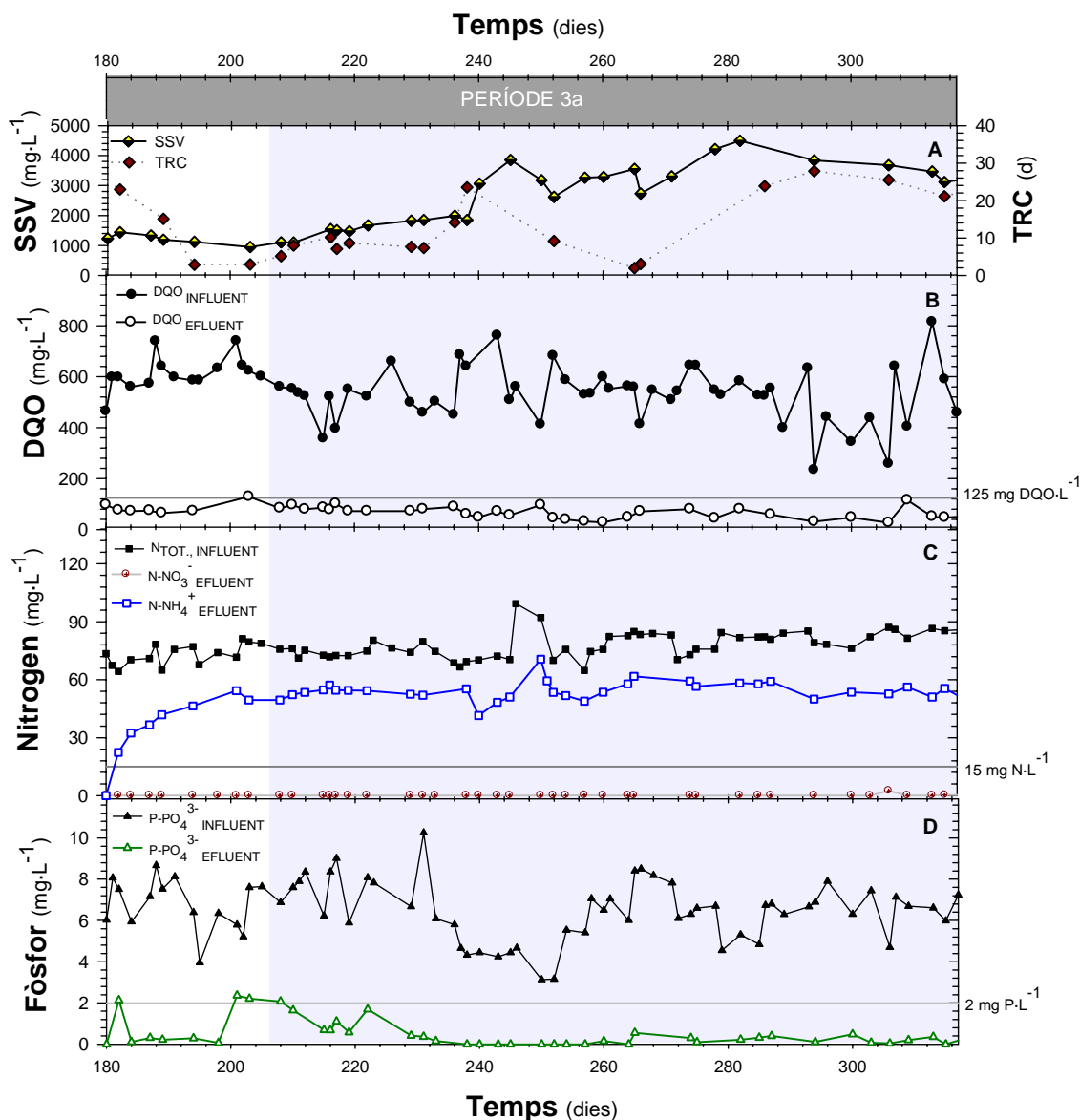


Figura 4.4. Evolució dels sòlids en suspensió volàtils i temps de residència cel·lular (A), la matèria orgànica en forma de DQO (B), del nitrogen en forma de nitrogen total (N_{TOT}), amoni (NH_4^+) i nitrat (NO_3^-) (C) i del fòsfor en forma de fosfats (D) durant el període 3a. Els límits d'abocament per a cada espècie es basen en la Directiva Europea 91/271/CEE. La part ombrada representa l'aparició de grànuls en el reactor SBR.

Per altra banda, la davallada de l'edat cel·lular dels fangs a causa d'un creixement de filamentosos, els quals no permetien una bona sedimentació, arribant a valors de 3 dies als voltants del dia 200 del procés (Figura 4.4.A), va produir un increment dels fosfats a la sortida del reactor (Figura 4.4.D), obtenint valors lleugerament per sobre del límit marcat per la llei. Cal posar atenció al control de l'edat cel·lular dels fangs, ja que majoritàriament, l'eliminació simultània de nitrogen i fòsfor té lloc a TRC entre 10- 30 dies (Furumai *et al.*, 1999; Terada *et al.*, 2006) i es postula que TRC menors produeixen l'aparició de fosfats en efluentes (Tsuneda *et al.*, 2006) i valors majors incrementen la població d'organismes competidors de fòsfor (Liu i Liu, 2006).

Un dels fets més importants d'aquest període es troba a partir del dia 208 (zona ombrejada Figura 4.4), en el qual es va detectar la presència de fang granular dins el reactor. Dulekgurgen *et al.*, (2003) exposa que la formació dels grànuls pot ser causada per l'efecte de càrregues de substrat i sobretot per la influència del temps de sedimentació. De Kreuk *et al.* (2005) afegeix també que l'estrés per agitació o per aeració és un factor clau en la formació dels grànuls. En el cas del present estudi, la baixa concentració de sòlids i el recent augment de càrrega en el seu moment, van facilitar les condicions de formació de grànul en el sistema, ja que a valors menors de SST dins el reactor, el fregament entre partícules disminueix i la selecció dels fangs per velocitat de sedimentació augmenta.

La impossible recuperació del procés de nitrificació durant els més de quatre mesos i mig que va durar el període 3a va ser el major mal de cap del seguiment del sistema. Tot i que a partir de la formació dels grànuls els sòlids augmentessin en quantitat, no es va observar cap canvi en la concentració d'amoni fins el dia 240 (Figura 4.4.A i 4.4.C). La disminució de fangs que s'havia produït anteriorment juntament amb els baixos TRC haurien produït un rentat dels bacteris nitrificants del sistema; per aquesta raó es va decidir inocular fang de la Depuradora de Sils-Vidreres en el dia 240, augmentant així la concentració de sòlids del reactor (Figura 4.4.A, dia 240). Aquesta reinoculació no va conduir a un increment de la nitrificació, possiblement per la ràpida disminució del TRC els dies posteriors, a causa d'un continu rentat dels fangs, que ens va conduir a les mateixes condicions inicials amb edats cel·lulars menors a 5 dies al dia 265.

En vistes a la pobra recuperació del procés de nitrificació després de la inoculació ($59 \text{ mg N} \cdot \text{L}^{-1}$ a l'efluent), es va decidir incentivar el creixement dels bacteris nitrificants augmentant l'edat cel·lular aeròbia dels fangs, així que es va augmentar la fase aeròbia d'un 31% a un 42% del temps total del cicle de treball en el dia 293, disminuint alhora el percentatge anaerobi per a mantenir el cicle de 8 hores. Finalment, tot i els canvis produïts en el sistema, l'amoni a la sortida del reactor no va disminuir al final del període ($56 \text{ mg N} \cdot \text{L}^{-1}$), però tant els processos d'eliminació de matèria orgànica com els de fòsfor van aconseguir unes eficiències del 89% i el 98% respectivament.

4.1.3.2 Període 3b

L'objectiu principal del present estudi es fomentava en l'eliminació biològica de matèria orgànica, nitrogen i fòsfor. Fins al moment s'havien aconseguit rendiments més que acceptables pel primer i l'últim, però la nitrificació era el punt més feble del tractament. Al finalitzar el període 3a (dia 317) es va comprovar que l'edat cel·lular aeròbica ($\text{TRC}^* \% \text{aerobi}$) fos més gran que el valor teòric per tal de permetre el creixement dels bacteris nitrificants. Just abans de fer el següent canvi en el sistema, el TRC aeròbic era de 8.9 dies, el teòric es troba entre 4 i 7 dies segons Metcalf & Eddy (2003). Com que ja es complia el TRC que

permetés el creixement dels nitrificants es va decidir unir les fases anòxiques i aeròbiques del cicle de treball per a augmentar el temps de resposta dels microorganismes i, així, evitar problemes en els quals el TRC calculat es diferencia del real per la transició entre fases. Així doncs, finalment es va treballar amb un cicle de 8 hores i dues alimentacions, el 50% a la primera en fase anaeròbia per afavorir l'eliminació de fòsfor i la resta a la segona en fase anòxica, tal i com es mostra en la Figura 4.5.

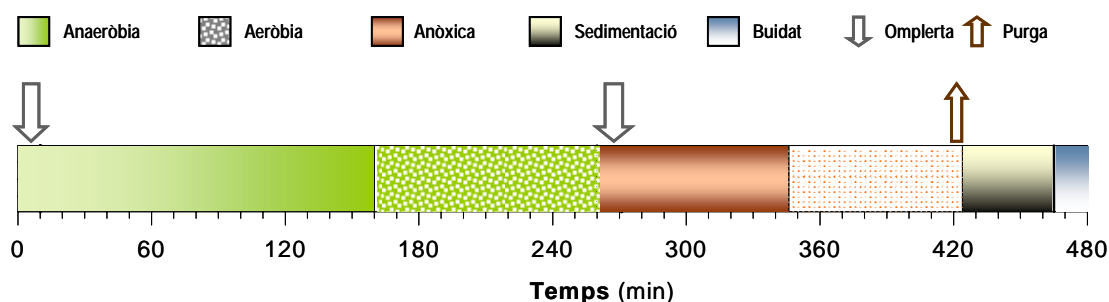


Figura 4.5. Configuració del cicle de treball de l'SBR durant període 3b.

La Figura 4.6. mostra l'evolució de les dades de sòlids volàtils i temps de residència cel·lular (A), de la DQO (B), de les espècies nitrogenades (C) i del fòsfor (D) durant els 96 dies d'operació de l'SBR del període 3b a un TRH aproximat de 0.9 dies.

Un cop implementat el canvi de tres a dues alimentacions el sistema va tardar aproximadament 20 dies a recuperar l'estabilitat en l'eliminació de tots els nutrients, que és el temps que va necessitar el procés per a estabilitzar-se després del primer augment de càrrega (Figura 4.6.B). Les concentracions aconseguides a l'efluent després de recuperar la nitrificació van ser de $51 \text{ mg O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$, $6 \text{ mg N} \cdot \text{L}^{-1}$ i $0.4 \text{ mg P} \cdot \text{L}^{-1}$.

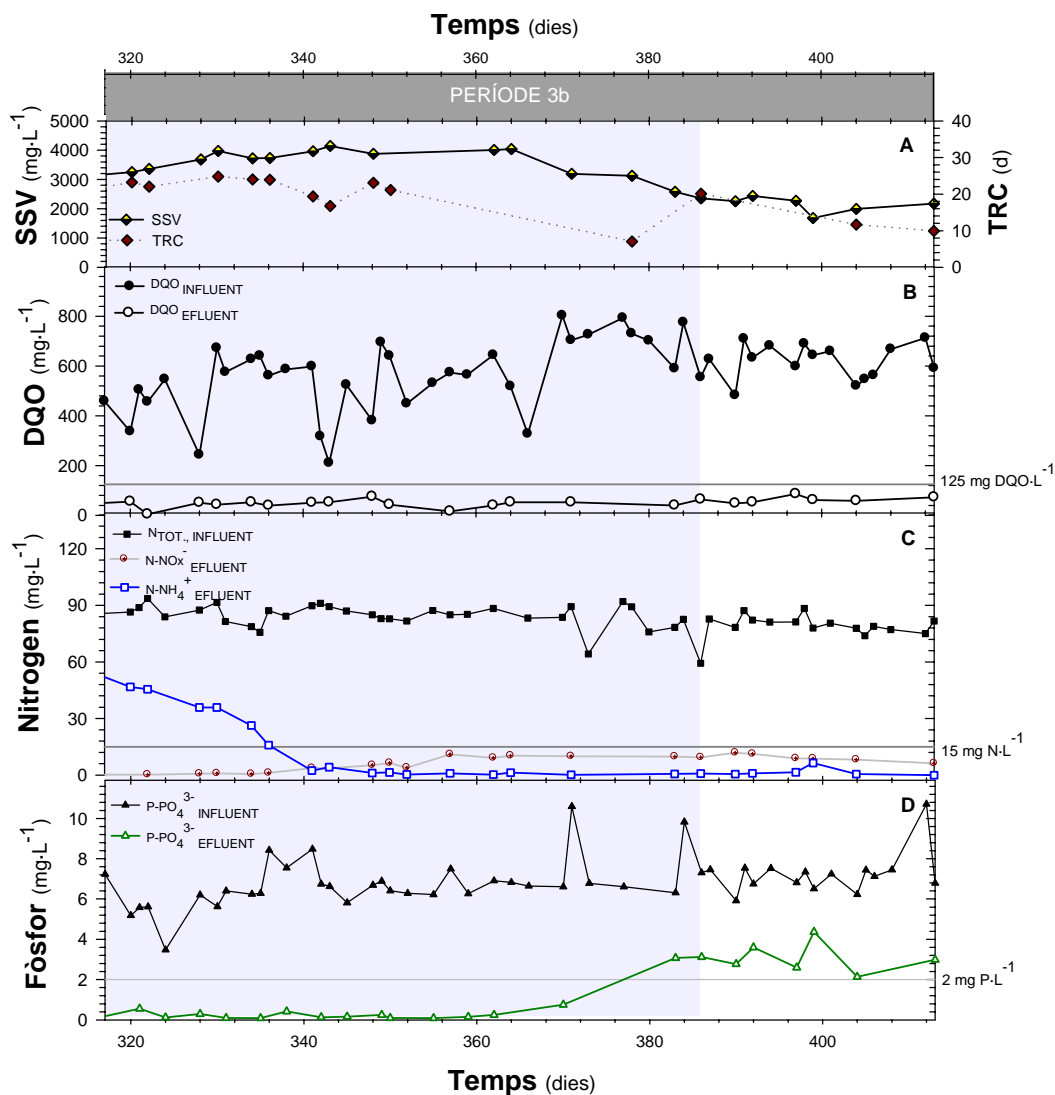


Figura 4.6. Evolució dels sòlids en suspensió volàtils i temps de residència cel·lular (A), la matèria orgànica en forma de DQO (B), del nitrogen en forma de nitrogen total (N_{TOT}), amoni (NH_4^+) i nitrats i nitrits (NO_x^-) (C) i del fòsfor en forma de fosfats (D) durant el període 3b. Els límits d'abocament per a cada espècie es basen en la Directiva Europea 91/271/CEE. La part ombrrejada representa l'aparició de grànuls en el reactor SBR.

Per altra banda, la utilització de tècniques microbiològiques com el FISH (Fluorescence in situ hybridization) pot resultar una aportació d'informació molt important per a conèixer l'evolució de les espècies que permeten el funcionament del sistema. Per aquesta raó, es va prendre una mostra de fangs al dia 321 i se'n va fer la prova d'amonioxidants i nitròxidants, els bacteris responsables de la nitrificació. Els resultats de la prova es mostren en la Figura 4.7.

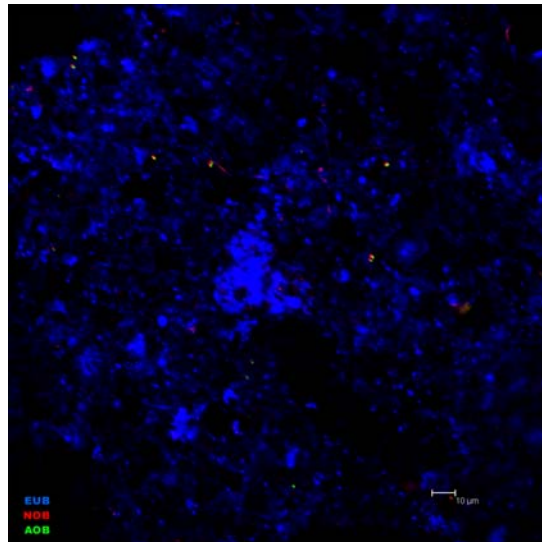


Figura 4.7. Resultats prova FISH de la mostra de fang del dia 321. Blau (EUB) representa tots els bacteris. Vermell (NOB) representa els nitritoxidants. Verd (AOB) representa els amonioxidants.

L'anàlisi FISH ens confirma que quatre dies després del canvi de configuració del cicle hi havia una població de nitrificants (AOB + NOB) del 2.2% respecte el total de bacteris. Aquest resultat és del tot coherent si es té en compte que en el període 3a pràcticament no hi havia activitat nitrificant. Per altra banda, el rendiment teòric de la biomassa autotròfica (Y_A) és de $0.12 \text{ g VSS} \cdot \text{g}^{-1} \text{N}$ segons Metcalf & Eddy (2003). Si es fa un càlcul aproximat tenint en compte el nitrogen consumit per cicle, el creixement de la biomassa autòtrofa és d'uns $8 \text{ mg VSS} \cdot \text{L}^{-1}$, valor gairebé despreciable si es compara amb la quantitat de sòlids volàtils presents dins el reactor (Fig. 4.6.A).

Una altra informació que se n'extreu del FISH és, a més a més, que bacteris amonioxidants i nitritoxidants es disposen molt units entre ells, formant colònies conjuntes que faciliten una oxidació ràpida de l'amoni a nitrit i seguidament a nitrat.

En els períodes d'inici de la nitrificació, la comunitat de NOB sol estar més pobrament establerta que la d'amonioxidants, per això la quantitat de nitrit en front a la de nitrat augmenta (Muirhead & Appleton, 2007). Per tal de comprovar analíticament el fet de l'augment de nitrit en els períodes d'inici de la nitrificació, es va realitzar un perfil de les espècies de nitrogen, juntament amb el pH, durant la primera etapa aeròbia (minuts 160-260 segons Fig. 4.5) del cicle de treball en el dia 342 del sistema. Les dades d'aquest experiment es troben representades en la Figura 4.8.

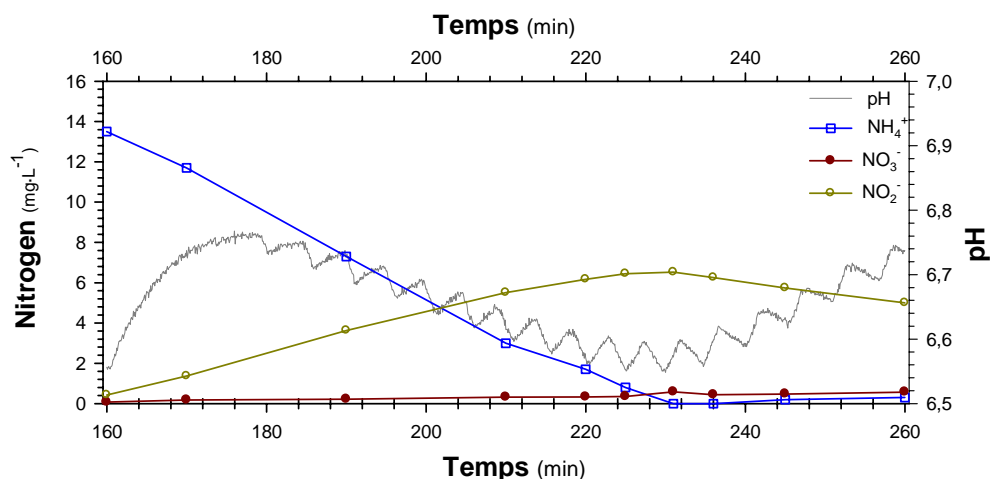


Figura 4.8. Evolució de les espècies de nitrogen i el pH durant la primera fase aeròbia d'un cicle de 8 hores del dia 342.

A l'inici de l'etapa aeròbia del cicle (minut 160, Fig. 4.8) s'observa una davallada de l'amoni juntament amb un increment de la concentració de nitrit, mentre que el nitrat es manté inamovible. Aquest fet es deu, com ja s'ha comentat anteriorment, al lent creixement dels bacteris nitròxidants, els quals necessiten que primer creixin els amonioxidants per a poder desenvolupar-se posteriorment. El fet que el pH observat a la Figura es trobi en un rang inferior a 7 podria induir a pensar en la possible inhibició dels nitròxidants per part de l'àcid nítrós lliure, però en les condicions en les quals operava el reactor, la concentració de HNO_2 tenia un màxim a $0.016 \text{ mg N} \cdot \text{L}^{-1}$ (calculat a partir de les equacions d'equilibri de HNO_2 i NO_2^- a 20°C) i l'efecte inhibitori no s'observa fins a concentracions a partir de $0.2 \text{ mg N} \cdot \text{L}^{-1}$ (Anthonisen *et al.*, 1976). El seguiment del pH durant les fases de reacció és, de fet, la variable que aporta més informació sobre l'estat del procés de nitrificació. Com es pot observar a la Figura 4.8., un cop acabada la reacció de nitrificació la qual dona protons, el pH comença a augmentar per l' stripping del CO_2 , on part de l'alcalinitat de l'aigua es transfereix a la fase gas en forma de CO_2 basificant el medi per la formació de grups hidroxils. Aquest fet mostra una vall en el perfil de pH que marca el final de la nitrificació, la qual se l'anomena Ammonia Valley (Puig *et al.*, 2006).

Un cop recuperada la nitrificació (dia 340, Figura 4.6.), el procés d'eliminació de carboni, nitrogen i fòsfor funcionava correctament, obtenint concentracions a l'efluent per sota els límits marcats per la llei ($43 \text{ mg O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$, $4 \text{ mg N} \cdot \text{L}^{-1}$ i $0.1 \text{ mg P} \cdot \text{L}^{-1}$). Així doncs, per assegurar el correcte comportament del sistema es va realitzar una prova FISH al dia 352 per als bacteris responsables de l'eliminació biològica del fòsfor, els resultats de la quals es troben a la Figura 4.9.

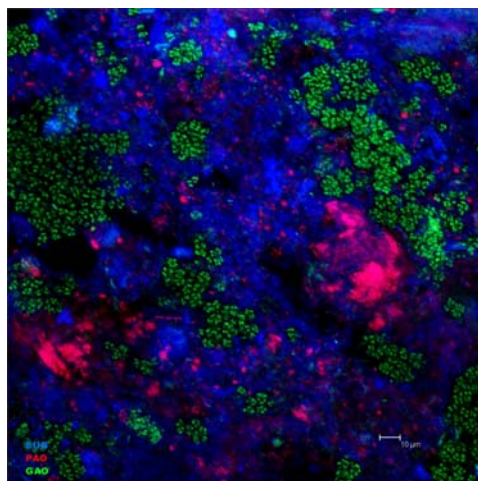


Figura 4.9. Resultats prova FISH de la mostra de fang del dia 352. Blau (EUB) representa tots els bacteris. Vermell (PAO) representa els organismes acumuladors de fòsfor. Verd (GAO) representa els organismes acumuladors de glicogen (competidors PAOs).

Tot i que les dades representades a la Fig. 4.6.D. mostren eficiències satisfactòries per a l'eliminació del fòsfor entre els dies 340 i 370, els resultats extrets de l'anàlisi FISH ens revelen que en la mostra de fang del dia 352 s'obtenen un 16.4% i un 23.3% de població de PAOs i GAOs respectivament. La significant presència de GAOs en els sistemes d'eliminació de fòsfor pot provocar una competència amb els PAOs per als àcids grassos volàtils (AGV), i en aquest estudi també per a l'etanol, donant lloc a un possible deteriorament del procés, sobretot quan els AGV, o altres tipus de matèria orgànica, són limitants (Oehmen *et al.*, 2004). A més a més, cal tenir en compte que les baixes concentracions de fòsfor en l'última etapa anòxica (o anaeròbia quan finalitza la desnitrificació) poden afavorir el creixement dels GAOs (Liu *et al.*, 1997). Per tant, en el pitjor dels casos, els GAOs poden dominar per sobre els PAOs produint la pèrdua completa de la bioacumulació de fòsfor (Zeng *et al.*, 2003a). Per altra banda, segons Okunuki *et al.* (2004), encara que un reactor operi durant un llarg període amb les mateixes condicions, les poblacions microbiològiques són dinàmiques i la pèrdua de l'eliminació de fòsfor es pot produir de manera reversible, o sigui, restablint el procés després d'un període on no hi ha hagut ni captació de matèria orgànica ni de fòsfor.

Una altra prova que es va realitzar, tenint en compte que el nostre sistema es basa en l'eliminació simultània de nitrogen i fòsfor, és la detecció de presència de DPAOs. Aquests microorganismes tenen la característica d'oxidar els PHA acumulats a l'interior de la cèl·lula utilitzant els NO_3^- com acceptor d'electrons en fase anòxica. És per això que en el dia 365 es va plantejar la realització d'un experiment seguint les pautes de la bibliografia (Tsuneda *et al.*, 2006; Wachtmeister *et al.*, 1997), on la captació del fòsfor en fase anòxica (en presència de nitrats) es compara amb la captació en fase aeròbia. Es van realitzar dos experiments en discontinu, un amb una seqüència de fases anaeròbia i aeròbia (per a la determinació dels PAOs) i l'altre en anaeròbia i anòxica (per a la determinació dels DPAOs). Els resultats dels experiments es mostren a la Figura 4.10.

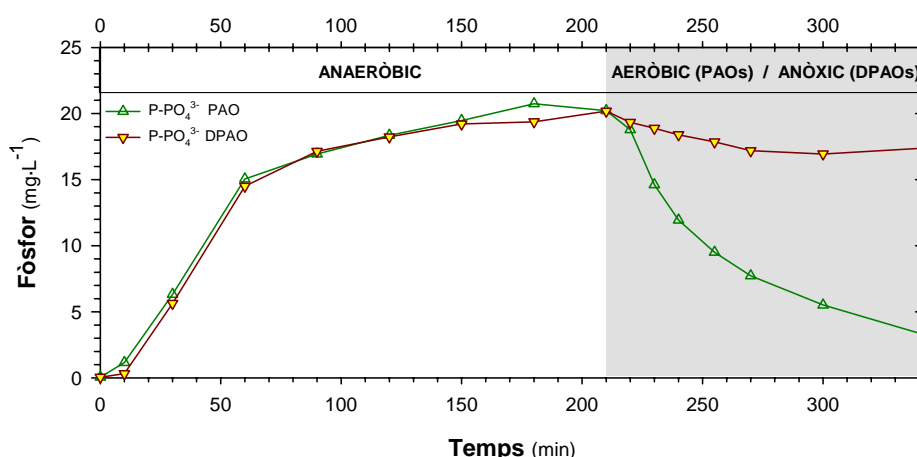


Figura 4.10. Perfil analític de fòsfor per a l'eliminació de fòsfor a partir de PAOs (fase anaeròbia + aeròbia) i DPAOs (fase anaeròbia + anòxica).

Les velocitats específiques de captació de fòsfor (*Phosphate Uptake Rate*, PUR) en fase aeròbia i anòxica són el punt clau de l'experiment, ja que la relació d'aquestes s'utilitza com un índex que reflexa la fracció de DPAOs presents al sistema (Taula 4.5.). El PUR es calcula com el pendent obtingut un cop finalitza la captació del fòsfor.

Taula 4.5. Velocitats específiques de captació de fòsfor en fase aeròbia i anòxica

| Paràmetre | Valor | Unitats |
|-------------|-------|---|
| PUR aeròbic | 0.087 | (mg P·g ⁻¹ SSV h ⁻¹) |
| PUR anòxic | 0.019 | (mg P·g ⁻¹ SSV h ⁻¹) |
| Relació PUR | 0.21 | - |

En el cas del nostre procés la fracció de DPAOs obtinguda va ser d'un 21% dels PAOs totals, el que indica una baixa activitat dels DPAOs respecte l'eliminació global del fòsfor. Tot i això, cal tenir en compte que la quantitat de fòsfor eliminat dependrà del PHA acumulat a cada tipus de microorganisme i, per tant, de la quantitat de PAOs o DPAOs que hi hagi en el total de la biomassa.

Després d'un període d'estabilitat del procés (des del dia 340 al 360, Figura 4.6), es va observar una quantitat de nitrats important a la sortida de l'efluent (9.9 mg N-NO₃⁻·L⁻¹) a partir del dia 360, produïts per la nitrificació de l'última etapa aeròbia (Figura 4.6.C). Com que la tecnologia utilitzada en aquest estudi, la seqüencial per càrregues, manté a l'interior del reactor les concentracions presents al final de cada cicle, els nitrats procedents de l'oxidació de l'amoni quedaven presents a l'inici de les fases anaeròbies, produint una competència per la matèria orgànica amb els PAOs i els desnitrificants i, per tant, afavorint la

població de GAOs (Zeng *et al.*, 2003b). Aquest fet va conduir a una desestabilització del fòsfor que a partir del dia 370 es va començar a acumular dins el reactor.

Abans de procedir a un altre canvi en la configuració del cicle, es va creure oportú realitzar una anàlisi completa de la població microbiològica del sistema del dia 371 abans d'optimitzar el procés. Els resultats de les proves FISH per nitrificants i PAOs i GAOs es representen a la Figura 4.11.

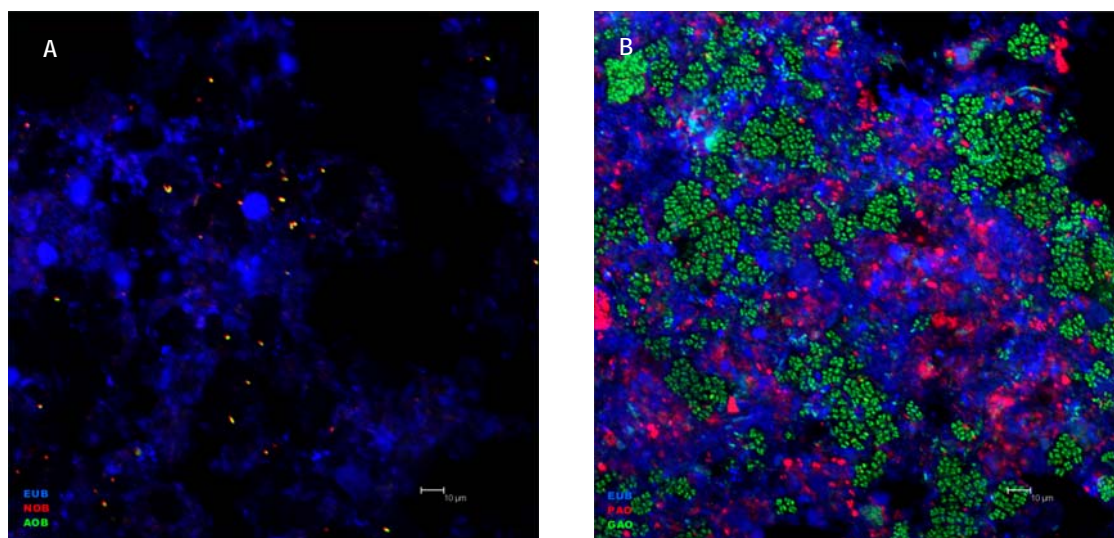


Figura 4.11. Resultats prova FISH de la mostra de fang del dia 371. Blau (EUB) representa tots els bacteris. Vermell A (NOB) representa els organismes nitritoxidants. Verd A (AOB) representa els organismes amonioxidants. Vermell B (PAO) representa els organismes acumuladors de fòsfor. Verd B (GAO) representa els organismes acumuladors de glicogen (competidors PAOs).

La Figura 4.11.A mostra un creixement de les poblacions nitrificants respecte les dades anteriors (Fig. 4.7.). Com també passava en l'anàlisi del dia 321, els bacteris amonioxidants i nitritoxidants continuen formant agrupacions molt properes, les quals donen el solapament del color vermell i verd donant senyals grogues en els resultats FISH. Pel que fa referència a les poblacions relacionades amb l'eliminació de fòsfor (Figura 4.11.B), s'observa una dispersió dels organismes acumuladors de fòsfor i un creixement massiu dels competidors (GAOs), formant agrupacions de cel·les molt ben definides. Per tal de comprendre millor l'evolució dels microorganismes durant el període 3b, la Taula 4.6. conté resumits els percentatges de les poblacions de cada procés, el de nitrogen (AOB – NOB) i el de fòsfor (PAO – GAO).

Taula 4.6. Percentatges d'espècies microbiològiques per a l'eliminació del fòsfor i el nitrogen.

| | % AOB | % NOB | % PAO | % GAO |
|---------|-------|-------|-------|-------|
| Dia 321 | 0.9 | 1.3 | - | - |
| Dia 352 | - | - | 16.4 | 23.3 |
| Dia 371 | 1.5 | 2.5 | 17.3 | 34.8 |

La recuperació del procés de nitrificació a partir del dia 340 va permetre el creixement dels organismes nitrificants en més d'un 50%. Tot i que els valors d'aquestes poblacions siguin molt baixes, cal recordar que els organismes autòtrofs són bacteris amb creixement molt lent, amb un rendiment de $0.12 \text{ g VSS} \cdot \text{g}^{-1} \text{N}$ a la temperatura de treball (20°C) del reactor SBR (Metcalf & Eddy, 2003). Pel que fa als percentatges de PAOs i GAOs, aquests segons predominen en el sistema, duen a la situació de desestabilització de l'eliminació de fòsfor. Existeixen molts factors operacionals que suposadament causen el domini dels GAOs com per exemple TRC elevats, relacions de temps de residència hidràulics anaeròbic - aeròbic grans, baixes relacions C/P en el substrat i aeracions excessives (Jeon *et al.*, 2006). Així doncs, el sistema necessitava un canvi operacional per a la millora de l'eliminació simultània de carboni, nitrogen i fòsfor, intentant incrementar la població de PAOs en detriment de la de GAOs per afavorir l'eliminació del fòsfor.

Un altre factor important a tenir en compte dins el sistema era la presència de grànul, el qual havia aparegut en unes condicions específiques en el període 3a. Durant aproximadament 70 dies després de començar el nou període, el grànul havia format part del procés, però la barreja de fang floculat i el creixement dels sòlids dins el reactor impediè la bona sedimentació de les partícules granulades, provocant un rentat progressiu d'aquestes fora del sistema. Així doncs, pels voltants del dia 386 (final de la zona ombrejada de la Figura 4.6.) el reactor SBR tornava a ser exclusivament format per fang en forma de flocul.

Finalment, després de tots els estudis realitzats durant els prop més de tres mesos, el procés havia aconseguit l'eliminació de nutrients en el punt mig del període (Figura 4.6), però no l'estabilització del procés. Tot i que durant els dies finals s'hagués produït una davallada de la bioacumulació del fòsfor, el sistema va acabar el període 3b obtenint unes eficiències del 89 %, 87 % i 59 % pel carboni, el nitrogen i el fòsfor respectivament. Les concentracions de la matèria orgànica i el nitrogen es trobaven sota els límits d'abocament ($73 \text{ mg O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$; $6.2 \text{ mg N} \cdot \text{L}^{-1}$), però no les de fòsfor ($2.9 \text{ mg P} \cdot \text{L}^{-1}$).

4.1.3.3 Període 3c

La pèrdua de la bioacumulació de fòsfor al final del període 3a s'havia de respondre amb un canvi en el plantejament de treball del reactor SBR. El fet de l'aparició de nitrats (aproximadament $8 \text{ mg N} \cdot \text{L}^{-1}$) al final de cada cicle i també l'augment de la població de GAOs, ambdós amb un efecte competidor amb l'activitat dels PAOs, apuntaven a una falta de matèria orgànica durant la fase anaeròbia, en la qual els organismes acumuladors de fòsfor realitzen la captació dels àcids grassos volàtils o altres formes de carboni orgànic (com l'etanol present a l'aliment sintètic).

Així doncs, la possible solució pel problema de l'excés de nitrats i GAOs passava per augmentar la càrrega de matèria orgànica i nutrients durant la primera alimentació del procés, en la qual es va decidir aplicar un 70 % del volum total a tractar i la resta, el 30 %, afegir-lo durant la segona alimentació per tal d'eliminar els nitrats formats en la nitrificació. La configuració d'aquest nou cicle és la mateixa que es presenta en la Figura 4.5., una estratègia step-feed de dues alimentacions, la primera enfocada a fòsfor, amb un parell de fases anaeròbia-aeròbia i la segona enfocada a nitrogen, amb un parell de fases anòxica-aeròbia.

Les dades obtingudes a partir de l'aplicació d'aquesta nova estratègia es representen en la Figura 4.12, la qual conté els sòlids volàtils i el TRC (A), la DQO (B), les espècies nitrogenades (C) i el fòsfor (D) dels últims 258 dies d'operació de l'estudi aplicant fang floculat convencional.

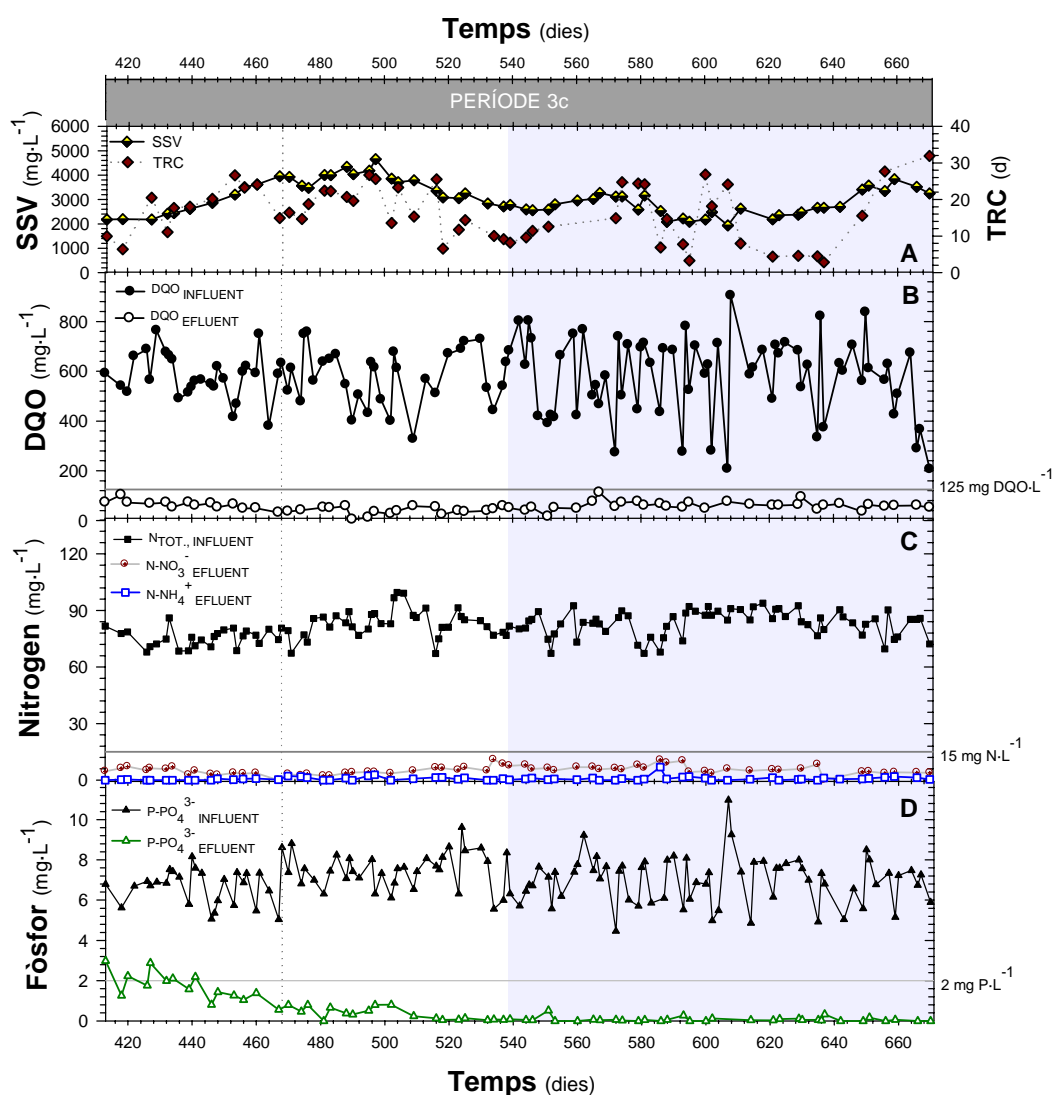


Figura 4.12. Evolució dels sòlids en suspensió i temps de residència cel·lular (A), la matèria orgànica en forma de DQO (B), del nitrogen en forma de nitrogen total (N_{TOT}), amoni (NH_4^+) i nitrat (NO_3^-) (C) i del fòsfor en forma de fosfats (D) durant el període 3c. Els límits d'abocament per a cada espècie es basen en la Directiva Europea 91/271/CEE. La part ombrrejada representa l'aparició de grànuls en el reactor SBR.

L'aplicació d'una càrrega més elevada de nutrients a la primera alimentació del cicle de l'SBR va esdevenir amb diferents conseqüències positives. La primera fou una recuperació dels sòlids en suspensió a l'interior del reactor (Fig. 4.12.A), els quals van augmentar més de 2000 Mg SST·L⁻¹ en 20 dies i, com a conseqüència va augmentar l'edat cel·lular dels fangs, fet que assegurava tant el creixement dels organismes heteròtrofs com els autòtrofs. Per altra banda, tant la matèria orgànica (Fig. 4.12.B), com el nitrogen (Fig. 4.12.C) van arribar a eficiències de 86 % i 96 %, respectivament al dia 460, havent disminuït uns 5 mg N·L⁻¹ la concentració de nitrats a l'efluent. Finalment, amb els 20 primers dies d'operació del període 3c el fòsfor obtenia una eficiència del 80 %, obtenint concentracions per sota els límits de la llei a la sortida del reactor.

La ràpida recuperació del sistema va plantejar realitzar el seguiment analític de les espècies de nitrogen i fòsfor, juntament amb les variables de pH i oxigen dissolt, durant tot un cicle de treball del reactor SBR per poder avaluar el comportament de cada reacció i assegurar l'estabilitat de tots els processos. Els resultats obtinguts durant la campanya de mostreig el dia 460 es representen a la Figura 4.13.

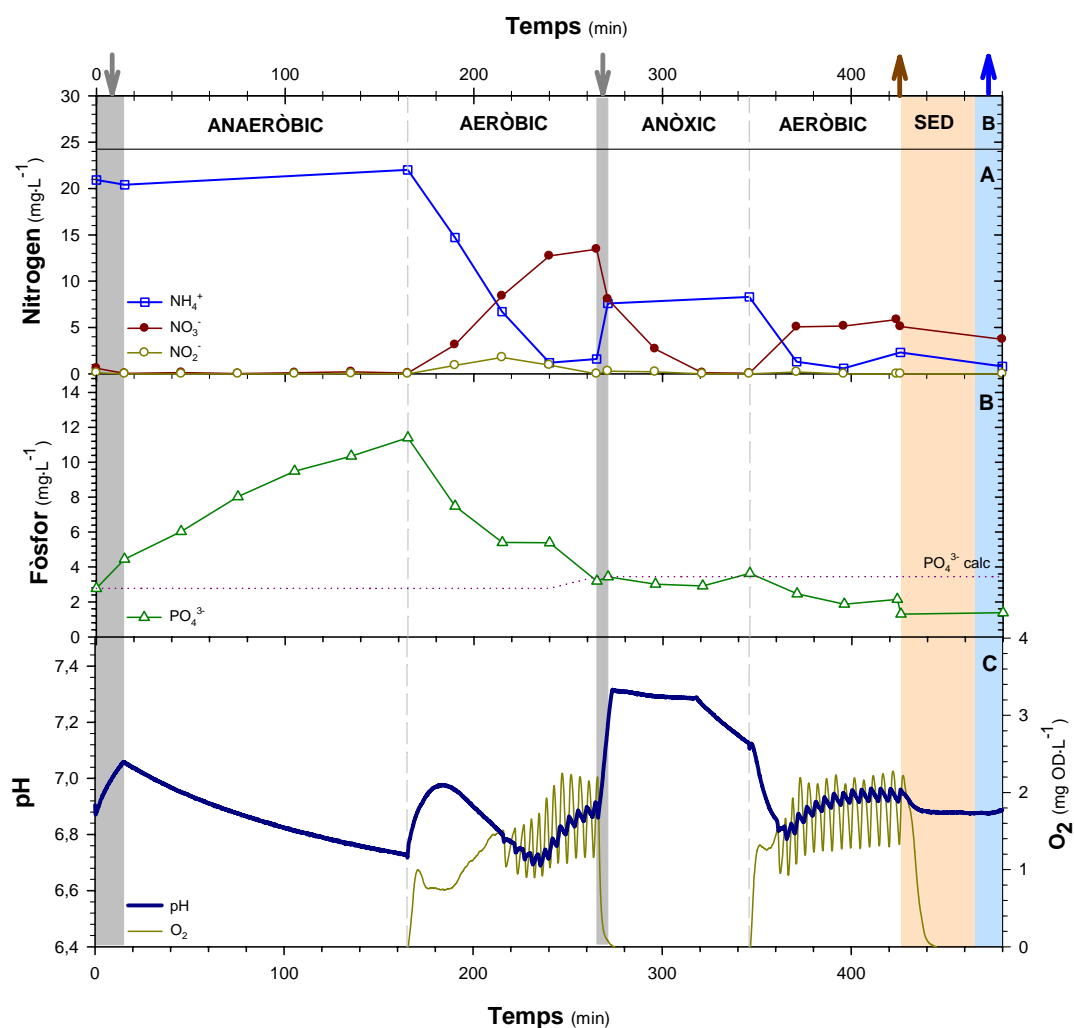


Figura 4.13. Evolució de les espècies de nitrogen (A), fòsfor (B) i de les variables on-line de pH i OD (C) durant un cicle de 8 hores del dia 460 del reactor SBR.

El perfil analític de les espècies de nitrogen durant un cicle de vuit hores (Figura 4.13.A.) dona un comportament típic, on l'amoni disminueix en etapes aeròbiques donant una producció de nitrats i, aquests últims, s'eliminen del sistema en fase anòxica aprofitant la matèria orgànica afegida a la segona alimentació. Com ja havíem observat anteriorment, en el punt on l'amoni arriba a valors propers a zero, en els minuts 240 i 360 del cicle, el pH (Figura 4.13.C) s'observa l'Ammonia Valley. Així doncs, tant a partir de les dades analítiques com pels perfils de les variables on-line, es pot assegurar que la primera fase aeròbia té temps suficient per a l'eliminació de l'amoni afegit i que la segona presenta un excés de temps aerobi, és a dir, un excés d'aportació d'oxigen al sistema.

Per altra banda, tot i que el perfil de fòsfor (Figura 4.13.B.) segueix el patró habitual en què en la fase anaeròbia s'alliberen fosfats, arribant a una concentració de $11.4 \text{ mg P} \cdot \text{L}^{-1}$, i en l'aeròbia s'emmagatzemen dins els PAOs, aquesta captació es veu bastant limitada, ja que no és fins a la segona fase aeròbia que s'observen valors de fosfats per sota els calculats (els fosfats que hi haurien sense activitat microbiològica), obtenint un $P_{LUXURY \text{ UPTAKE}}$ (captat menys alliberat) de $1.5 \text{ mg P} \cdot \text{L}^{-1}$. Un dels punts febles que es poden observar en els resultats del fòsfor és que no apareix una estabilització de la concentració dels fosfats, ni tampoc del pH, al final de la fase anaeròbia, fet que pot ser induït per una limitació del temps anaerobi.

L'anàlisi dels resultats del perfil analític del cicle ens va aportar dues informacions essencials del procés. Hi havia més temps del que era necessari a la segona fase aeròbia i faltava temps a la fase anaeròbia per a poder captar més matèria orgànica i estabilitzar el fòsfor. Per aquesta raó, en el dia 468 es van extreure 30 minuts de la segona fase aeròbia i es van afegir a l'anaeròbia, arribant així a un nou cicle de treball (Figura 4.14) amb un 44% d'anaeròbia i un 33% d'aeròbia, percentatge suficient per a no comprometre el creixement d'autòtrofs segons l'edat cel·lular (TRC de 15-20 dies; TRC_{AER} de 7 a 9 dies). El resultat d'aquest canvi va ser una estabilització del fòsfor a valors propers a zero (Dia 480, Figura 4.12.D) i, per tant, l'acompliment de l'objectiu principal de l'estudi, l'eliminació simultània de carboni, nitrogen i fòsfor.

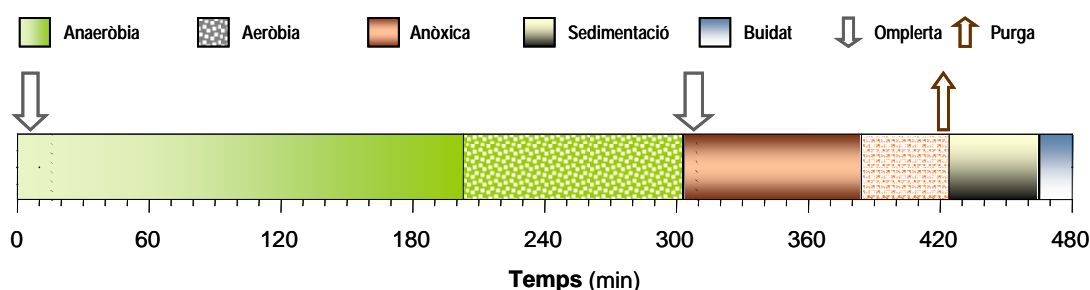


Figura 4.14. Configuració del cicle de treball de l'SBR durant els últims dies de l'estudi (des del dia 468).

Un cop el sistema va romandre estable pel que fa el carboni, el nitrogen i el fòsfor amb concentracions per sota els límits d'abocament ($41 \text{ mg O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$; $3.4 \text{ mg N} \cdot \text{L}^{-1}$; $0.4 \text{ mg P} \cdot \text{L}^{-1}$), un sobtat creixement de bacteris filamentosos (bulking filamentós) va produir una lleugera pèrdua de sòlids a partir del dia 500 i, com a conseqüència, la disminució de l'edat cel·lular dels fangs fins a 13 dies (Figura 4.12.A), arribant a valors limitants per al creixement autotròfic (TRC_{AER} de 4-6 dies). Tot i això, la nitrificació es va mantenir intacte fins al final del període 3c. L'únic fet remarcable durant aquest últim període va ser l'aparició de grànuls que va tenir lloc als voltants del dia 540. L'explicació d'aquest fenomen per segona vegada en un reactor SBR en el qual es tracta aliment sintètic no es pot definir de forma concreta, tot i que condicions similars pel que fa aparició de filamentós i edats cel·lulars baixes s'han donat en ambdós casos.

Els més de 120 dies d'estabilitat del sistema respecte els valors analítics de l'efluent (Figura 4.12) feien suposar una recuperació de les poblacions microbiològiques de tots els processos. Una anàlisi FISH realitzat el dia 608 del sistema ens permetria corroborar les dades analítiques obtingudes fins al moment, tan per a bacteris responsables de l'eliminació de nitrogen com pels de fòsfor (Figura 4.15.).

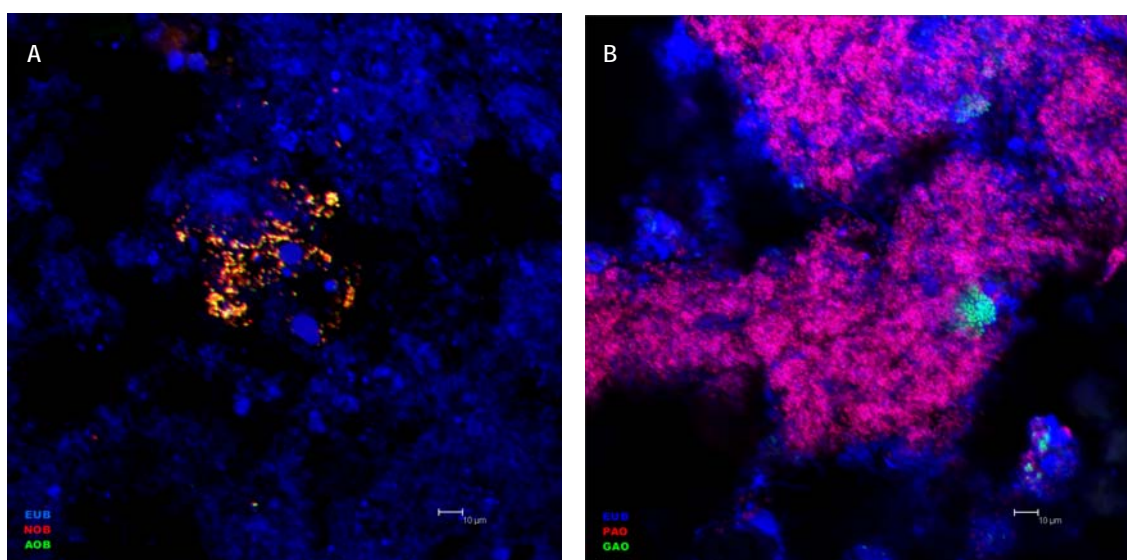


Figura 4.15. Resultats prova FISH de la mostra de fang del dia 608. Blau (EUB) representa tots els bacteris. Vermell A (NOB) representa els organismes nitrítidants. Verd A (AOB) representa els organismes amonioxidants. Vermell B (PAO) representa els organismes acumuladors de fòsfor. Verd B (GAO) representa els organismes acumuladors de glicogen (competidors PAOs).

Els resultats obtinguts per les poblacions nitríficants del sistema (Figura 4.15.A) donaren un percentatge del 8.6 % de bacteris AOB + NOB respecte el total, valor que representa un augment de gairebé la meitat de la població respecte les últimes anàlisis (Figura 4.11.A). A més a més, es continua observant l'agrupament d'amonioxidants molt propers als nitrítidants, tots ells formant colònies ben definides, fet que permet la ràpida oxidació de l'amoni a nitrat i el fàcil creixement de noves cèl·lules.

Per altra banda, l'espectacular creixement dels organismes acumuladors de fòsfor (Figura 4.15.B) juntament amb la important disminució dels seus competidors, reafirma l'efectivitat dels últims canvis en els sistema, en el qual l'aplicació de més càrrega de matèria orgànica en la primera omplerta i una durada de la fase anaeròbia major, van resultar ser els factors clau de la millora del procés. Els resultats microbiològics d'aquesta prova FISH i els analítics obtinguts durant els últims cinc mesos d'operació amb un sistema estable es troben resumits a la Taula 4.7.

Taula 4.7. Mitjanes dels resultats analítics i microbiològics des del dia 600 fins al final de l'estudi.

| | Conc. a l'efluent (mg · L ⁻¹) | Eficiència (%) | AOB – NOB (%) | PAO - GAO (%) |
|----------|--|---------------------|--------------------|--------------------|
| Carboni | 60 | 90 | 5.9 – 2.7 | 62.3 – 1.3 |
| Nitrogen | 7 | 92 | | |
| Fòsfor | 0.2 | 98 | | |

Tot i que finalment, els resultats mostrats a la Taula 4.7. mostren les millors eficiències durant tots els períodes de treball i també les majors concentracions microbiològiques, no es volia acabar l'estudi sense abans haver realitzat un perfil analític per avaluar l'evolució de les espècies químiques al llarg de les 8 hores d'un cicle de treball d'un sistema estable. Els resultats d'aquest experiment realitzat al dia 630 es troben representats a la Figura 4.16.

Els perfils de les espècies de carboni (Figura 4.16.A) mostren la disminució del carboni orgànic (TOC) durant les fases anaeròbia per l'activitat dels PAOs, en la qual capten la matèria orgànica per emmagatzemar-la a l'interior de la cèl·lula, i també en l'anòxica, on el TOC disminueix a causa del procés de desnitrificació on els nitrats, com acceptors d'electrons, es redueixen a nitrogen gas. Per altra banda, s'observa una concentració constant de la matèria orgànica en les fases aeròbies (16.5 mg C · L⁻¹), possiblement atribuïda a la fracció no biodegradable de l'influent. Pel que fa el carboni inorgànic (IC), aquest disminueix en les fases aeròbies per l'acció dels bacteris nitrificants, els quals consumeixen alcalinitat per a realitzar l'oxidació de l'amoni a nitrat. Finalment el procés condueix a una reducció del 88% i del 72% del carboni orgànic i l'inorgànic, respectivament.

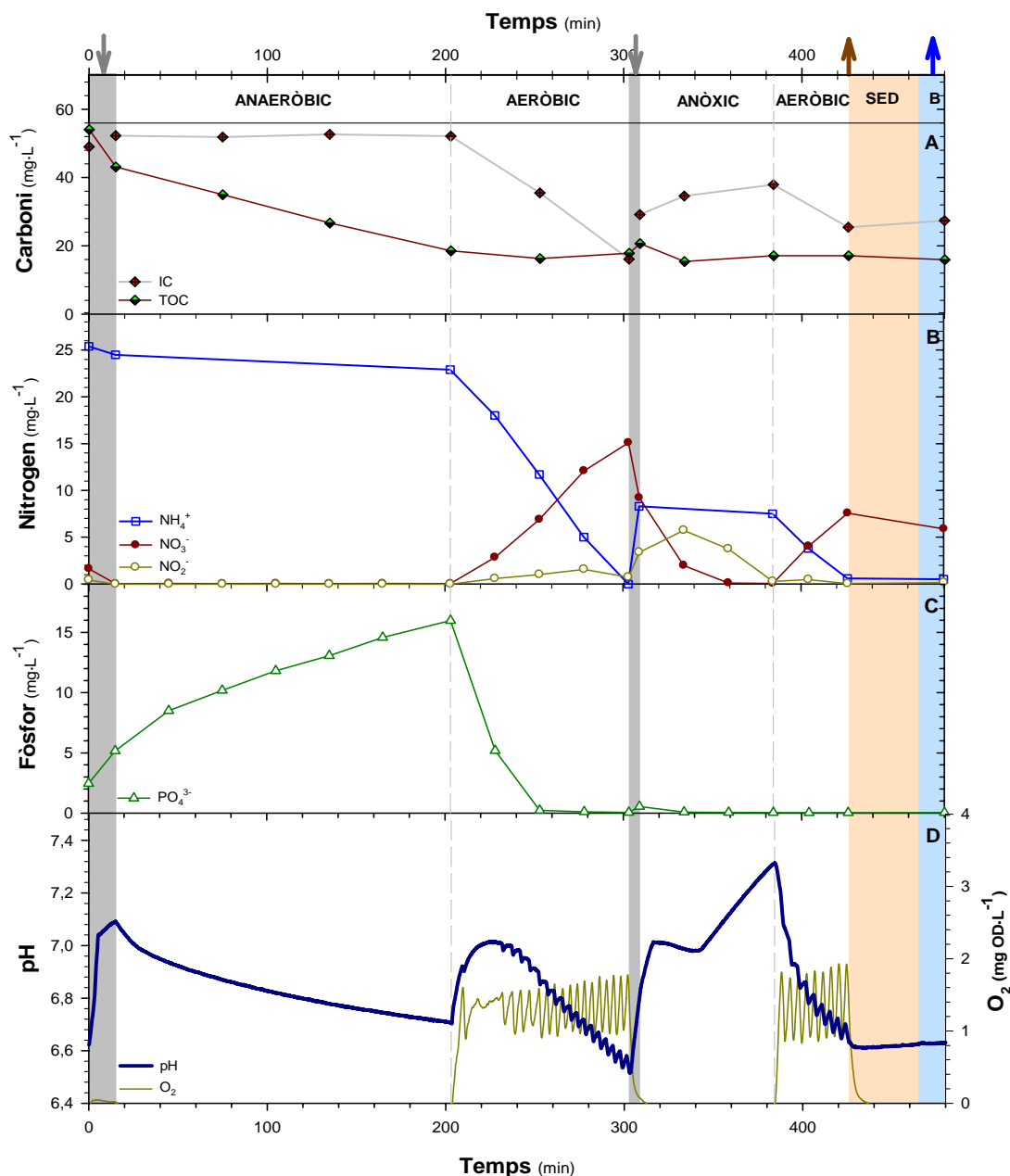


Figura 4.16. Evolució de les espècies de carboni (A), nitrogen (B), fòsfor (C) i de les variables on-line de pH i OD (D) durant un cicle de 8 hores del dia 630 del reactor SBR.

L'evolució de les espècies de nitrogen (Figura 4.16.B) té una relació molt lligada al perfil de pH mostrat a la Figura 4.16.D. Durant les etapes aeròbies on l'amoni és oxidat, la producció de protons d'aquesta reacció fa disminuir el pH fins que l'amoni pren valors propers a zero ($0.5 \text{ mg N} \cdot \text{L}^{-1}$ al final del cicle). Per altra banda, el procés de desnitrificació en l'etapa anòxica produeix hidroxils que causen un augment de pH del sistema. El fet que l'última etapa del cicle sigui una fase aeròbia fa que els nitrats es trobin presents amb una concentració de $6 \text{ mg N} \cdot \text{L}^{-1}$ a l'efluent, donant una eficiència final del 92% en l'eliminació del nitrogen total.

El fòsfor és l'espècie química dominant en la fase anaeròbia (Figura 4.16.C), ja que els PAOs són els organismes que actuen sense presència d'oxigen i nitrats, acumulant la matèria orgànica a l'interior a partir de la hidròlisi dels polifosfats, que acaben resultant amb una alliberació de fosfats en el medi ($P_{RELEASE}$ de 13.5 mg P·L⁻¹). La velocitat d'alliberació dels fosfats obtinguda en aquest experiment (1.6 mg P·g⁻¹ SSV·h⁻¹) és major que l'obtinguda en el perfil experimental del dia 460, on el procés d'eliminació del fòsfor no estava del tot estabilitzat. Cal tenir en compte que la variabilitat de la població dels organismes acumuladors de fòsfor influeix en l'eficiència del procés. Així, quan els PAOs augmenten el seu percentatge dins el total de la biomassa, augmenten la capacitat d'eliminació de fòsfor del sistema. La Taula 4.8. mostra els paràmetres experimentals obtinguts per a la bioacumulació de fòsfor amb etanol com a font de carboni.

Taula 4.8. Paràmetres experimentals de l'eliminació biològica del fòsfor amb etanol.

| Experiment | Velocitat P alliberat mg P·g ⁻¹ SSV·h ⁻¹ | Velocitat P captat mg P·g ⁻¹ SSV·h ⁻¹ | P alliberat – C captat (P_{REL}/C_{UP}) mmols P·mmols ⁻¹ C |
|------------|---|--|--|
| Dia 460 | 0.9 | 1.4 | - |
| Dia 630 | 1.6 | 7.6 | 0.14 |

Comparant els valors obtinguts per a les velocitats de captació del fòsfor (Taula 4.8), s'observa un increment en l'experiment realitzat al final de l'estudi (dia 630). La causa d'aquest augment es deu, com en el cas de l'alliberació, a una major quantitat de PAOs respecte el total de biomassa. Per altra banda, el valor obtingut és molt similar al dels fangs aclimatats a l'etanol (Puig *et al.*, 2007c). Finalment, la concentració aconseguida al acabar el perfil analític del cicle del dia 630 va ser de 0.05 mg P·L⁻¹ i el rendiment obtingut pel fòsfor fou del 99%.

Un cop acomplert l'objectiu inicial de l'estudi en el qual es volia eliminar carboni, nitrogen i fòsfor de forma simultània, el sistema va finalitzar treballant de forma estable aplicant una configuració SBR, en la qual cal tenir en compte el control de l'edat cel·lular dels fangs, la fracció de matèria orgànica introduïda en cada fase i la durada de les etapes. Així també cal remarcar la importància de conèixer l'evolució de les espècies microbianes, les quals donen una informació molt important de l'estat del sistema i de les actuacions que cal aplicar. Finalment, el coneixement del sistema englobant tots els processos i reaccions que hi intervenen, juntament amb la interpretació de les variables on-line, ens pot permetre la ràpida actuació i optimització de l'eliminació de matèria orgànica i nutrients utilitzant la tecnologia SBR.

4.2 Desenvolupament del fang granular

L'eliminació de matèria orgànica i nutrients s'ha dut a terme convencionalment amb biomassa floculada i de forma menys intensiva amb biomassa fixada. Actualment, el nou punt de mira és el fang granular, ja que presenta una alta capacitat de sedimentació i fa innecessària la presència dels sedimentadors tradicionals, permetent el disseny del tractament d'aigües en un sol reactor (De Kreuk, 2006). El procés de granulació ha estat extensament estudiat en processos de digestió anaeròbia (Lettinga *et al.*, 1997), però el fang granular també es pot formar en SBR sota condicions aeròbiques (Morgenroth *et al.*, 1997). L'aplicació del fang granular alternant fases anòxiques/anaeròbies/aeròbies és una tecnologia molt recent per a l'eliminació de matèria orgànica, nitrogen i fòsfor. La formació dels grànuls sota condicions aeròbies i la seva aplicació a l'eliminació biològica de nutrients s'ha estat investigant i desenvolupant durant la última dècada (Beun *et al.*, 1999; Tay *et al.*, 2001).

La recerca de sistemes compactes per al tractament d'aigües es basa en obtenir altes concentracions de biomassa i una bona sedimentació (Mosquera-Corral *et al.*, 2005), per això la recerca actual s'enfoca en la reducció dels temps de sedimentació a partir de la utilització de biofilms o grànuls. Cal tenir en compte que la quantitat de fangs en els sistemes de biomassa fixada està limitada per la superfície en la qual es poden agregar els bacteris (McSwain *et al.*, 2004). Com alternativa, el fang granular presenta la màxima àrea superficial per volum de bioamassa obtinguda (De Kreuk *et al.*, 2004), però cal remarcar que la mida de les partícules hauria de mantenir-se petita per tal de prevenir limitacions per difusió en els grànuls (Beun *et al.*, 1999).

L'aparició de fang granular en dues ocasions en el reactor SBR operant per eliminar C, N i P va plantejar l'estudi d'aquest tipus de sistema. El punt inicial d'aquest sistema va començar en finalitzar l'estudi de l'eliminació de nutrients amb fangs activats convencionals, els quals ja contenien partícules granulades mesclades amb la biomassa en suspensió.

L'objectiu principal del nou estudi era formar un grànul que eliminés matèria orgànica i nutrients, per això es va optar per la selecció dels grànuls en front al fang floculat a partir de disminuir progressivament el temps de sedimentació. La Taula 4.9. resumeix les condicions d'operació de l'SBR treballant amb fang granular durant els 20 dies de treball del reactor.

Taula 4.9. Condicions mitjanes d'operació de l'SBR durant el període de treball amb fang granular.

| Paràmetre | Descripció | Període 1 | Unitats |
|--------------|--|-----------|-----------------------|
| Durada | Nombre de dies que va durar el període | 20 | d |
| Q_i | Cabal de l'influent | 32.8 | L·d ⁻¹ |
| TRH | Temps de residència hidràulic | 0.82 | d |
| TRC | Temps de residència cel·lular | 14.2 | d |
| V_T | Volum màxim del reactor | 27 | L |
| Set-point OD | Punt de consigna de l'oxigen dissolt | 1.5 | mg OD·L ⁻¹ |
| R_E | Relació de canvi | 0.4 | - |
| Fase ANA | % fase anaeròbia sobre el temps de cicle (t_c) | 41.3 | % |
| Fase AER | % fase aeròbia sobre el temps de cicle (t_c) | 29.2 | % |

El dia que va començar el present estudi, es va realitzar una anàlisi FISH per a conèixer la presència de cada organisme i tenir un valor de referència inicial per a les posteriors proves. Per tal d'obtenir un resultat real dels organismes presents a la mescla de flocul i grànul es va agafar una mostra de fang aixafat i homogeneïtzat. El resultat de bacteris nitrificants i PAOs i GAOs es mostren a la Figura 4.17.

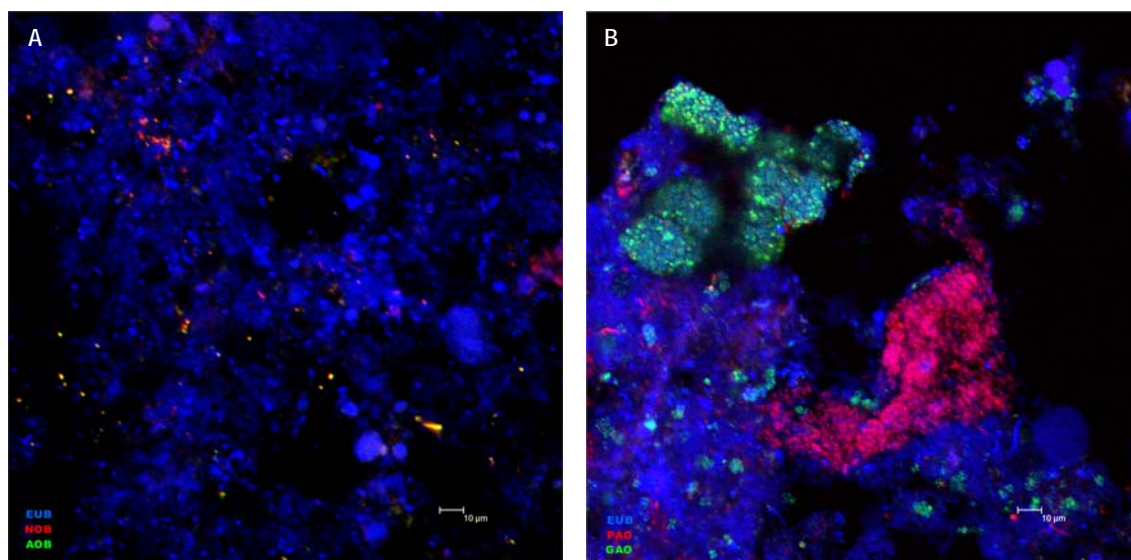


Figura 4.17. Resultats prova FISH de la mostra de fang del dia 1 de l'estudi de grànul. Blau (EUB) representa tots els bacteris. Vermell A (NOB) representa els organismes nitrificants. Verd A (AOB) representa els organismes amonioxidants. Vermell B (PAO) representa els organismes acumuladors de fòsfor. Verd B (GAO) representa els organismes acumuladors de glicogen (competidors PAOs).

Els resultats de les anàlisis FISH per a nitrificants donen una població de NOB d'un 4 % i un 1.5% d'AOB. Tot i que en la Figura 4.17.A. es veu com els AOB i els NOB es situen molt propers entre ells, en aquest cas no s'observen agrupacions de bacteris formant colònies, possiblement a causa del pretractament de

la mostra on es va aixafar el grànul i el flocul. Pel que fa als organismes que participen en la bioacumulació de fòsfor, s'obté un 21.2% de PAOs i una menor quantitat de competidors (GAOs) amb un 14.4%. Aquests valors per a les espècies que intervenen en l'eliminació de fòsfor són molt baixos en comparació als resultats obtinguts al dia 608 de l'estudi de fangs activats (Figura 4.15), però la disminució de l'edat cel·lular dels fangs en l'última etapa del període 3c (del dia 610 al 640, Figura 4.12.A), amb el consegüent rentat dels fangs, va produir una disminució dels microorganismes acumuladors de fòsfor. Tot i això, ambdós bacteris (PAOs i GAOs) s'organitzen formant colònies independents unes de les altres, amb cel·les ben definides que permetran la millora del creixement de nous organismes.

4.2.1 Disminució temps de sedimentació

La formació del grànul aeròbic no té unes bases clares fins el moment, implicant molts factors que cal estudiar a fons. Un dels factors importants d'aquest procés és la selecció de les partícules a partir de velocitats de sedimentació (De Kreuk, 2006). Existeix una evidència en la qual hi ha una selecció de les partícules de fang dins els reactors, la part de biomassa que no sedimenta prou ràpid serà rentada fora del sistema a través de l'efluent (Beun *et al.*, 1999). Així doncs, ja que la velocitat de sedimentació és un criteri de selecció tan important, la utilització de columnes llargues o temps de sedimentació curts són paràmetres avantatjosos per a la formació de grànuls (Arrojo *et al.*, 2004).

La majoria d'investigadors que treballen amb grànul en reactors SBR ho fan aplicant temps de sedimentació curts des de l'inici del procés (Inizan *et al.*, 2005; Liu *et al.*, 2005; Wang *et al.*, 2006), però Cassidy i Belia (2005) va partir d'un temps de sedimentació d'una hora i el va anar disminuint progressivament fins a 2 minuts. Com que el nostre procés partia d'un sistema amb 39 minuts de sedimentació, per començar amb l'estudi del fang granular, varem aplicar una estratègia de disminució del temps de sedimentació que seguia un perfil exponencial, el qual es troba representat a la Figura 4.18.

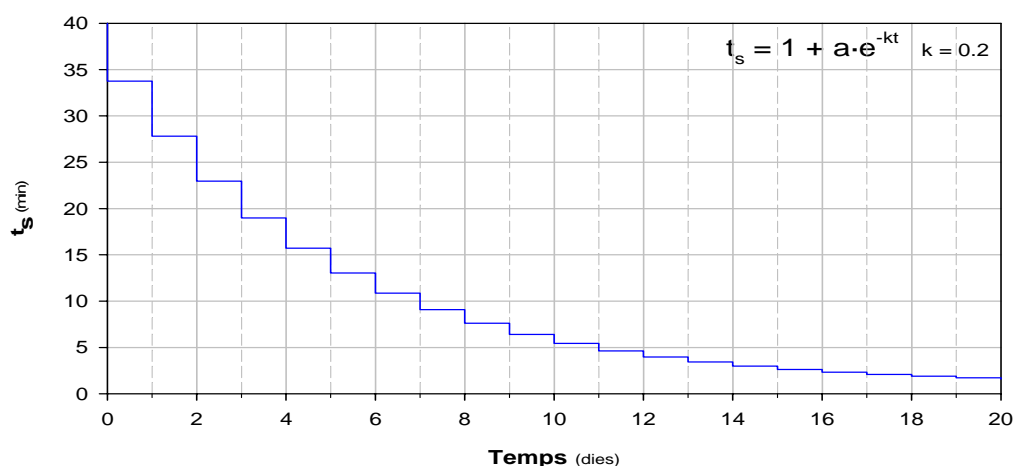


Figura 4.18. Estratègia per a disminuir el temps de sedimentació des de 39 minuts fins a 2 minuts en 20 dies.

La disminució de la sedimentació del sistema es va produir gradualment. En cada canvi, s'extreien els minuts de sedimentació i s'afegien en una fase anomenada "Idle" que es produïa just després del buidat i en la qual no actuava cap element del reactor, es mantenia el procés estàtic.

Per altra banda, els grànuls es caracteritzen per una sedimentació ràpida, per tant, un índex volumètric de fangs (IVF) baix. Així doncs, durant el primer període de l'estudi es van realitzar diverses proves per a conèixer l'evolució de l'IVF del sistema, la qual es troba representada en la Figura 4.19.

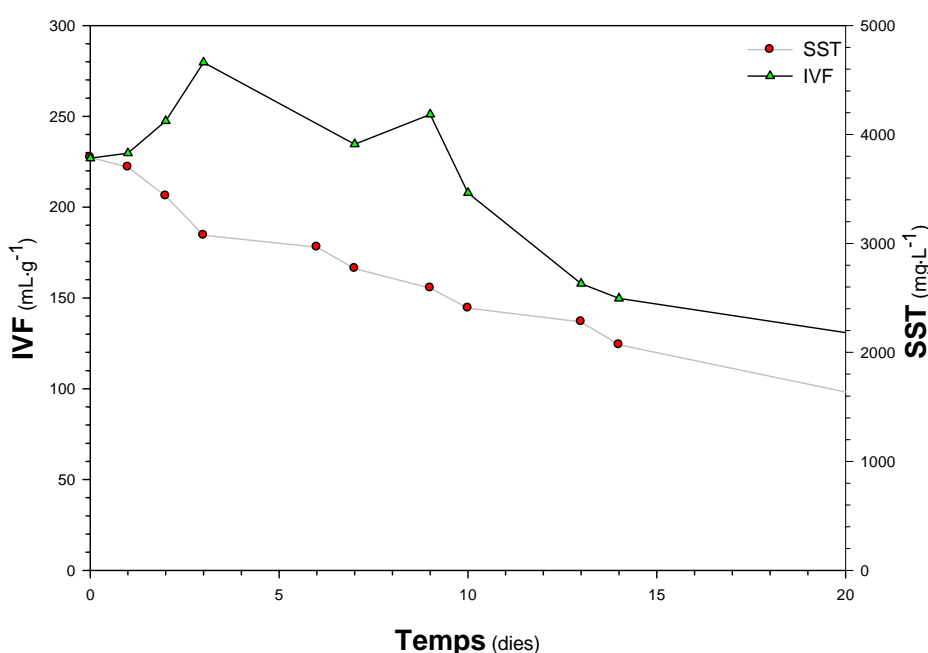


Figura 4.19. Evolució de l'índex volumètric de fangs (IVF) i els sòlids en suspensió totals (SST) del sistema durant el període d'estudi.

Durant el període on es va procedir a disminuir la sedimentació del procés, els fangs amb velocitats de sedimentació lentes eren rentats per la sortida, ocasionant així una disminució de la quantitat de sòlids dins el reactor tal i com presenta la Figura 4.19. Per altra banda, a mesura que avançava el període la selecció de les partícules era més notòria, augmentava la velocitat de sedimentació i disminuïa la IVF, possiblement gràcies a l'augment de la mida de les partícules granulades, i com a conseqüència de la seva densitat, tal i com s'observa en la fotografia de la Figura 4.20. Tot i això el valor de IVF aconseguit després de 20 dies no era del tot acceptable (aproximadament 130 mL·g⁻¹), ja que una IVF de 70 mL·g⁻¹ es considera alta per a un sistema de fang granular (De Kreuk, 2006).

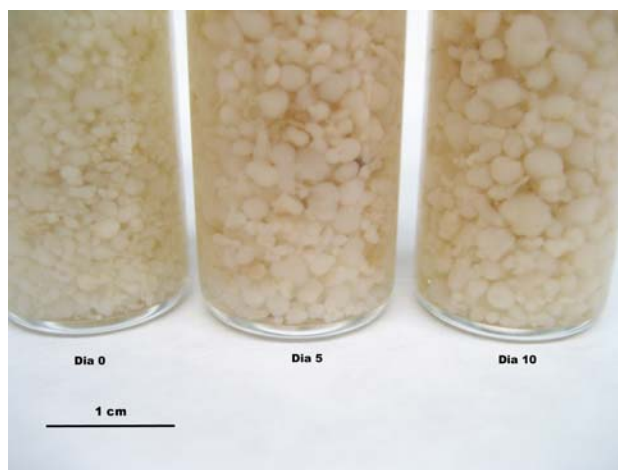


Figura 4.20. Fotografia de diferents mostres de grànuls del reactor SBR dels dies 0, 5 i 10 del procés.

El seguiment de les espècies químiques a l'influent i l'efluent del reactor SBR es va realitzar periòdicament per a conèixer l'estat del sistema. Els resultats de l'evolució de la matèria orgànica, el nitrogen i el fòsfor durant els primers 20 dies d'estudi es representen a la Figura 4.21.

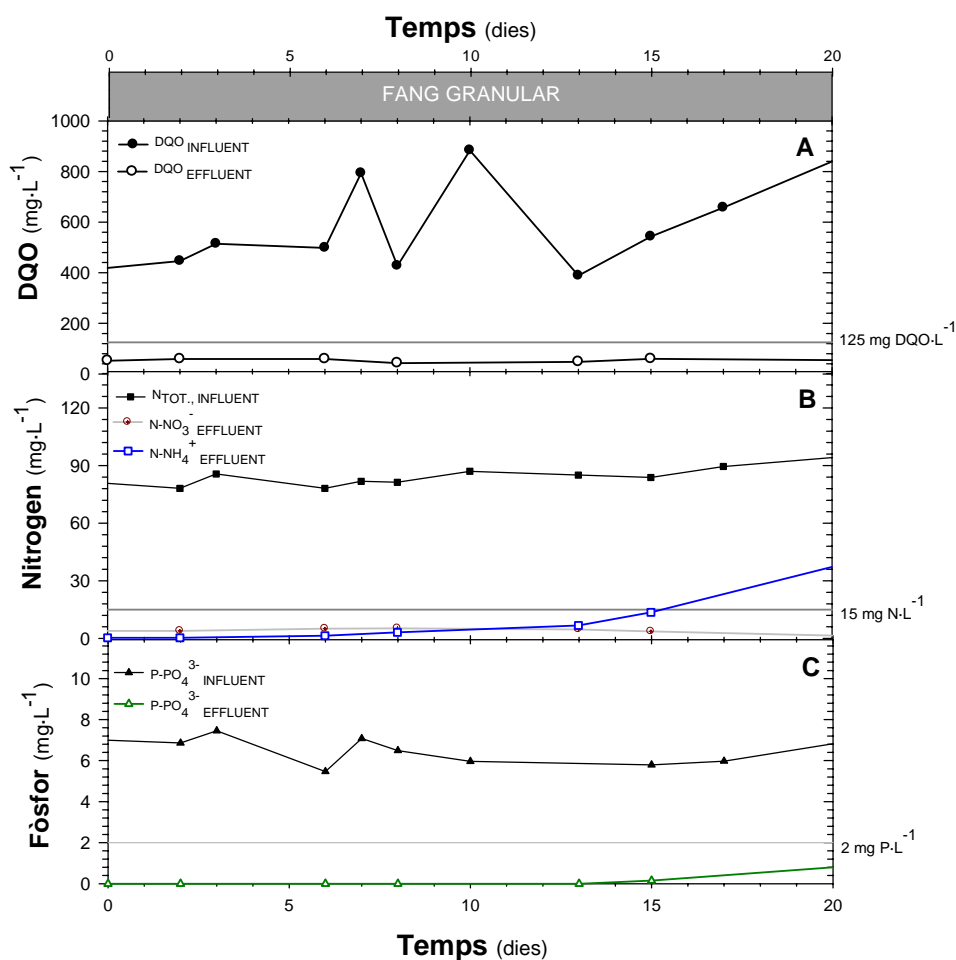


Figura 4.21. Evolució de la matèria orgànica (A), el nitrogen (B) i el fòsfor (C) en l'influent i l'efluent del reactor granular SBR durant el període d'estudi.

La matèria orgànica (Figura 4.21.A) es va mantenir intacte durant tot el període de disminució de la sedimentació. Així, tot i la disminució de sòlids del reactor, i gràcies a la contribució d'altres processos d'eliminació de nutrients com el fòsfor o la desnitrificació, el procés d'eliminació de carboni orgànic no es veia afectat per alteracions brusques del sistema. No passava el mateix amb els processos de nitrificació i de bioacumulació de fòsfor, en els quals s'observava un augment de la concentració en l'efluent per a l'amoni (Figura 4.21.B) i un lleuger increment del fòsfor a la sortida del reactor (Figura 4.21.C).

Anteriorment en aquest treball experimental s'ha observat la fragilitat del procés de nitrificació, el qual perd la seva eficiència amb facilitat quan es treballa amb temps d'aeròbia i TRC petits (Taula 4.9.). Tot i això caldria avaluar l'estabilitat del procés un cop format el grànul, on el temps de sedimentació queda fixat a 2 minuts, abans de proposar modificacions en la configuració del cicle. Així doncs, el seguiment de l'estabilitat del sistema de fang granular estudiant la configuració de l'SBR i l'evolució de les espècies de carboni, nitrogen i fòsfor, juntament amb les espècies microbiològiques, són els nous propòsits per al treball futur.

5 CONCLUSIONS

L'estudi de l'eliminació de matèria orgànica, nitrogen i fòsfor d'una aigua residual sintètica, amb una mescla de DME i etanol com a font de carboni, aplicat a la tecnologia SBR ha aportat les següent conclusions:

- En un SBR, l'estratègia step-feed de tres alimentacions, amb una alimentació major a la zona centrada a l'eliminació de fòsfor (fases anaeròbia + aeròbia), permet la reducció de la matèria orgànica i de les espècies de nitrogen i fòsfor en més d'un 86%, 91% i 98%, respectivament, quan es tracten càrregues aproximades de $0.41 \text{ Kg DQO} \cdot \text{m}^{-3}\text{d}^{-1}$, $0.06 \text{ Kg N} \cdot \text{m}^{-3}\text{d}^{-1}$ i $0.005 \text{ Kg P} \cdot \text{m}^{-3}\text{d}^{-1}$.
- La falta de matèria orgànica en l'influent del tractament biològic de nutrients durant la fase anaeròbia i anòxica disminueix les relacions C/P i C/N, produint la desestabilització de l'eliminació del fòsfor a causa de la competència per la matèria orgànica dels organismes acumuladors de fòsfor (PAOs) amb els seus competidors (GAOs) i els bacteris desnitrificants.
- Sota condicions amb deficiència de matèria orgànica es perd l'eliminació de fosfats i nitrats de l'aigua residual. L'activitat dels PAOs per la bioacumulació del fòsfor no es recupera en incrementar la font de carboni en l'aliment, fins que el procés de desnitrificació no s'estabilitza.
- L'estabilització de l'eliminació de fòsfor està estretament lligada amb la durada de la fase anaeròbia, ja que fases curtes poden limitar l'acumulació de matèria orgànica dins la cèl·lula en forma de PHA, conduint a una menor eficiència en l'eliminació del fòsfor.
- El control de l'edat cel·lular dels fangs és un dels punt clau dels sistemes biològics d'eliminació de nutrients. Pel que fa al procés d'eliminació de nitrogen, en especial en la nitrificació, la disminució del TRC_{AER} (l'edat cel·lular en fase aeròbia) per sota dels valors teòrics produeix un rentat dels bacteris autòtrofs en el sistema causant la pèrdua completa de la nitrificació. Per altra banda, pel que fa l'eliminació de fòsfor, valors molt baixos de l'edat cel·lular disminueixen l'eficiència de la bioacumulació dels PAOs i valors elevats afavoreixen el creixement dels seus competidors, els GAOs.
- El control del TRC, juntament amb la flexibilitat de la durada de les fases de reacció d'un SBR, permeten la ràpida recuperació dels processos d'eliminació de nutrients sense percebre efectes negatius en la reducció de la matèria orgànica.

- L'estratègia step-feed de dues alimentacions, aplicant una càrrega del 70% del total en les fases anaeròbia + aeròbia inicials, i amb temps de reacció curts en les fases anòxica + aeròbia finals, permet la reducció de la matèria orgànica i de les espècies de nitrogen i fòsfor en més d'un 90%, 92% i 98%, respectivament, quan es tracten càrregues aproximades de $0.7 \text{ Kg DQO} \cdot \text{m}^{-3}\text{d}^{-1}$, $0.1 \text{ Kg N} \cdot \text{m}^{-3}\text{d}^{-1}$ i $0.01 \text{ Kg P} \cdot \text{m}^{-3}\text{d}^{-1}$.
- L'etanol, com alternativa a la font de carboni convencional (àcids grassos volàtils), ha resultat ser viable en l'eliminació biològica de fòsfor donant un sistema enriquit en organismes acumuladors de fòsfor (PAOs) amb un 62.3% en contraposició al 1.3% dels organismes competidors (GAOs).
- El seguiment de l'evolució de les espècies químiques durant un cicle de treball de l'SBR, juntament amb el perfil de les dades on-line obtingudes a través del panell de control (pH, OD i RedOx), permeten conèixer el funcionament del procés i avaluar-ne la correcta configuració. Per altra banda, el seguiment de l'evolució de les espècies microbianes confirmen l'estat del sistema i permeten predir-ne el comportament futur. Així, la caracterització del sistema a partir de paràmetres físics, químics i biològics, a més del coneixement del sistema englobant tots els processos i reaccions que hi intervenen, permeten la ràpida actuació i optimització de l'eliminació de matèria orgànica i nutrients utilitzant la tecnologia SBR.
- En l'aplicació del fang granular per a l'eliminació de matèria orgànica, nitrogen i fòsfor, la selecció de les partícules per temps de sedimentació afavoreix el creixement del grànul i, com a conseqüència, la disminució de l'índex volumètric de fangs.

L'estudi de l'eliminació de matèria orgànica, nitrogen i fòsfor, juntament amb les configuracions aplicables per a la tecnologia SBR per al tractament d'aquests components, s'ha realitzat de forma satisfactòria durant aquest treball experimental. L'aparició del fang granular en el sistema ha despertat el neguit científic del grup de treball, així que els objectius futurs són aconseguir l'eliminació de C, N i P en un reactor discontinu seqüencial aplicant el fang granular, una nova tecnologia per investigar.

6 REFERÈNCIES

- A**kin, BS., Ugurlu, A. 2005. Monitoring and control of biological nutrient removal in Sequencing Batch Reactor. *Process Biochem.* **40** (8): 2873-2878.
- Amann, R.I. 1995. Fluorescently labeled, ribosomal-RNA-targeted oligonucleotide probes in the study of microbial ecology. *Mol. Ecol.* **4** (5): 543-553.
- Anthonisen, A.C., Loehr, RC., Prakasam, TBS. 1976. Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous acid. *Journal Water Pollution Control Federation.* **48** (5): 835-852.
- APHA, 1995. Standard Methods for the examination of Water and Wastewater. 19th edn. American Public Health Association/American Water Works Association/Water Environment Federation. Washington DC. USA.
- Arrojo, B., Mosquera-Corral, A., Garrido, JM., Méndez, R. 2004. Aerobic granulation with industrial wastewater in sequencing batch reactors. *Water Res.* **38** (14-15): 3389-3399.
- B**alaguer, M.D., Colprim, J., Martín, M., Poch, M., Rodríguez-Roda, I. 1998 Tractament biològic d'aigües residuals urbanes. Monografia n°1. Pub. UdG. Departament de Medi Ambient.
- Beun, JJ., Hendriks, A., Van Loosdrecht, MCM., Morgenroth, E., Wilderer, PA., Heijnen, JJ. 1999. Aerobic granulation in a sequencing batch reactor. *Water Res.* **33** (10): 2283-2290.
- C**assidy, D.P., Belia, E. 2005. Nitrogen and phosphorus removal from an abattoir wastewater in a SBR with aerobic granular sludge. *Water Res.* **39**(20): 4817-4823.
- Clark, T., Stephenson, T., Pearce, PA. 1997. Phosphorus removal by chemical precipitation in a biological aerated filter. *Water Res.* **31** (10): 2557-2563.
- Corominas, LI. 2006. Control and optimization of an SBR for nitrogen removal: From model calibration to plant operation. Ph.D. Thesis. University of Girona.
- D**e Kreuk, MK., Van Loosdrecht, MCM. 2004. Selection of slow growing organisms as a means for improving aerobic granular sludge stability. *Water Sci. Technol.* **49** (11-12): 9-17.
- De Kreuk, MK., Pronk, M., van Loosdrecht, MCM. 2005. Formation of aerobic granules and conversión processes in an aerobic granular sludge reactor at moderate and low temperatures. *Water Res.* **39** (18): 4476-4484.
- De Kreuk, MK. 2006. Aerobic Granular Sludge: Scaling up a new technology. Ph.D. Thesis. TU Delft.

- Dulekgurgen, E., Ovez, S., Artan, N., Orhon, D. 2003. Enhanced biological phosphate removal by granular sludge in a sequencing batch reactor. *Biotechnology Letters*. 25 (9): 687-693.
- EPA**. 1999. Wastewater technology fact sheet sequencing batch reactor. Office of Water. Washington D.C.
- Furumai**, H., Kazmi, AA., Fujita, M., Furuya, Y., Sasaki, K. 1999. Modeling long term nutrient removal in a sequencing batch reactor. *Wat Res*. 33 (11): 2708-2714.
- Ganigué**, R. 2006. Oxidació parcial de l'amoni a nitrit en afluents d'elevada càrrega amoniacal. Treball de Recerca (Master Thesis). LEQUIA - UdG-Universitat de Girona.
- Hansen**, RD. 1983. Water and Waste Water in Imperial Rome. *Water Resources Bulletin*. 19: 263-269.
- Hu, Z-R., Wentzel, MC., Ekama, GA. 2002. Anoxic growth of phosphate-accumulating organisms (PAOs) in biological nutrient removal activated sludge systems. *Water Res*. 36 (20): 4927-4937.
- Inizan**, M., Freval, A., Cigana, J., Meinhold, J. 2005. Aerobic granulation in a sequencing batch reactor (SBR) for industrial wastewater treatment. *Water Sci. Technol*. 52 (10-11): 335-343.
- Jeon**, CO., Lee, DS., Lee, MW., Park, JM. 2006. Enhanced biological phosphorus removal in an anaerobic-aerobic sequencing batch reactor: Effect of pH. *Water Env. Res*. 73 (3): 301-306.
- Johnson, BR., Goodwin, S., Daigger, GT. and Crawford, GV. 2005. A comparison between the theory and reality of full-scale step-feed nutrient removal systems. *Water Sci. Technol*. 52 (10-11): 587-596.
- Keller**, J., Subramaniam, K., Gösswein, J., Greenfield, PF. 1997. Nutrient removal from industrial wastewater using single tank sequencing batch reactors. *Water Sci. Technol*. 35 (6): 137-144.
- Lee**, DS., Jeon, CO., Park, JM. 2001. Biological nitrogen removal with enhanced phosphate uptake in a sequencing batch reactor using single sludge system. *Water Res*. 35 (16): 3968-3976.
- Lettinga, G., Field, J., Van Lier, J., Zeeman, G., Hulshoff Pol, LW. 1997. Advanced anaerobic wastewater treatment in the near future. *Water Sci. Technol*. 35 (10): 5-12.

- Liu, WT., Nakamura, K., Matsuo, T. Mino, T. 1997. Internal energy-based competition between polyphosphate- and glycogen-accumulating bacteria in biological phosphorus removal reactors – effect of P/C feeding ratio. *Water Res.* 31 (6): 1430-1438.
- Liu, Y., Lin, YM., Tay, JH. 2005. The elemental compositions of P-accumulating microbial granules developed in sequencing batch reactors. *Process Biochem.* 40 (10): 3258-3262.
- Liu, Y., Liu, QS. 2006. Causes and control of filamentous growth in aerobic granular sludge sequencing batch reactors. *Biotechnol. Adv.* 24(1): 115-127.
- Mc**Swain, BS., Irvine, RL., Wilderer, PA. 2004. The influence of settling time on the formation of aerobic granules. *Water Sci. Technol.* 50 (10): 195-202.
- Metcalf & Eddy. 2003. Wastewater engineering: treatment and reuse. McGraw-Hill Higher Education. New York. 4th Ed.
- Mino, T., van Loosdrecht, M.C.M., Heijnen, J.J. 1998. Microbiology and biochemistry of the enhanced biological phosphate removal process. *Water Res.* 32 (11), 3193-3207.
- Morgenroth, E., Sherden, T., Van Loosdrecht, MCM., Heijnen, JJ., Wilderer, A. 1997. Aerobic granular sludge in a sequencing batch reactor. *Water Res.* 31 (12): 3191-3194.
- Mosquera-Corral, A., De Kreuk, MK., Heijne, JJ., Van Loosdrecht, MCM. 2005. Effects of oxygen concentration on N-removal in an aerobic granular sludge reactor. *Water Res.* 39 (12): 2676-2686.
- Muirhead, WM., Appleton, R. 2007. Operational Keys to Nitrite Lock. *Proceedings of the International conference on Nutrient Removal (WEF). Baltimore, Maryland.* 805-819. March 2007.
- O**ehmen, A., Zeng, R., Yuan, Z., Keller, J. 2004. Anaerobic Metabolism of Propionate by Polyphosphate-Accumulating Organisms in Enhanced Biological Phosphorus Removal Systems. *Water Sci. Technol.* 50 (10): 139-144.
- Oehmen, A., Zeng, R., Yuan, Z., Keller, J. 2005. Short-term effect of carbon source on the competition of polyphosphate accumulating organisms and glycogen accumulating organisms. *Biotechnol. Bioeng.* 91 (1): 43-53.
- Okunuki, S., Kawaharasaki, M., Tanaka, H., Kanagawa, T. 2004. Changes in phosphorus removing performance and bacterial community structure in an enhanced biological phosphorus removal reactor. *Water Res.* 38 (9): 2433-2439.
- P**eters, M., Newland, M., Seviour, T., Broom, T., Bridle, T. 2004. Demonstration of enhanced nutrient removal at two full-scale SBR plants. *Water Sci. Technol.* 50 (10): 115-120.

- Pijuan, M., Guisasola, A., Baeza, JA., Carrera, J., Casas, C., Lafuente, J. 2005. Aerobic phosphorus release linked to acetate uptake: Influence of PAO intracellular storage compounds. *Biochem.Eng.J.* 26 (2-3): 184-190.
- Puig, S., Vives, MT., Corominas, LI., Balaguer, MD., Colprim, J. 2004. Wastewater nitrogen removal in SBRs, applying a step-feed strategy: from lab-scale to pilot-plant operation. *Water Sci. Technol.* 50 (10): 89-96.
- Puig, S., Corominas, LI., Vives, MT., Balaguer, MD., Colprim, J. 2005. Development and Implementation of a Real-Time Control System for Nitrogen Removal Using OUR and ORP as End Points. *Ind. Eng. Chem. Res.* 44 (9): 3367-3373.
- Puig, S., Corominas, LI., Traore, A., Colomer, J., Balaguer, MD., Colprim, J. 2006. An on-line optimisation of a SBR cycle for carbon and nitrogen removal based on on-line pH and OUR: the role of dissolved oxygen control. *Water Sci. Technol.* 53 (4-5):171-178.
- Puig, S., Corominas, LI., Balaguer, M.D., Colprim, J. 2007a. Biological Nutrient removal by applying SBR technology in small wastewater treatment plants: carbon source and C/N/P ratio effects. *Water Sci. Technol.* 55(7), 135-141.
- Puig, S., Coma, M., Van Loosdrecht, MCM., Colprim, J, Balaguer, M.D. 2007b. Ethanol as the external carbon source for biological nutrient removal. *J. Chem. Technol. Biot.*. Accepted, in press.
- Puig, S., Coma, M., Monclús, H., Van Loosdrecht, MCM., Colprim, J., Balaguer, MD. 2007c. Selection between alcohols and volatile fatty acids as external carbon sources for EBPR. *Water Res.* Submitted.
- Qin, L., Liu, Y. 2006. Aerobic granulation for organic carbon and nitrogen removal in alternating aerobic-anaerobic sequencing batch reactor. *Chemosphere.* 63 (6): 926-933.
- Saito, T., Brdjanovic, D., Van Loosdrecht, MCM. 2004. Effect of nitrite on phosphate uptake by phosphate accumulating organisms. *Water Res.* 38 (17): 3760-3768.
- Sin, G., Niville, K., Bachis, G., Jiang, T., Nopens, I., Van Hulle, S., Vanrolleghem, PA. 2007. Nitrite effect on the phosphorus uptake activity of phosphate accumulating organisms (PAO) in pilot-scale SBR and MBR reactors. *Proceedings of the International conference on Nutrient Removal (WEF).* Baltimore, Maryland. 17-38. March 2007.
- Smolders, GJF., Van der Meij, J., van Loosdrecht, MCM., Heijnen, J.J. 1994. Model of the anaerobic metabolism of the biological phosphorus removal process; stoichiometry and pH influence. *Biotechnol. Bioeng.* 43 (6): 461-470.

- T**ay, JH., Liu, QS., Liu, Y. 2001. The effects of shear force on the formation structure and metabolism of aerobic granules. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 57: 227-233.
- Terada, A., Yamamoto, T., Tsuneda, S., Hirata, A. 2006. Sequencing batch membrane biofilm reactor for simultaneous nitrogen and phosphorus removal: Novel application of membrane-aerated biofilm. *Biotechnol. Bioeng.* 94 (4): 730-739.
- Tsuneda, S., Ohno, T., Soejima, K., Hirata, A. 2006. Simultaneous nitrogen and phosphorus removal using denitrifying phosphate-accumulating organisms in a sequencing batch reactor. *Biochemical Engineering J.* 27(3) 191-196.
- V**an Loosdrecht, M.C.M., Hooijmans, C.M., Brdjanovic, D., Heijnen, J.J., 1997. Biological phosphate removal processes. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 48, 289-296.
- Vives, MT. 2004. SBR technology for wastewater treatment: suitable operational conditions for nutrient removal. Ph.D. Thesis. University of Girona.
- W**achtmeister, A., Kuba, T., Van Loosdrecht, MCM., Heijnen, JJ. 1997. A sludge characterization assay for aerobic and denitrifying phosphorus removing sludge. *Water Res.* 31 (3): 471-478.
- Wang, ZW., Li, Y., Zhou, JQ., Liu, Y. 2006. The influence of short-term starvation on aerobic granules. *Process Biochem.* 41 (12): 2373-2378.
- Water Framework Directive (2000). *Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council of 23 October 2000 establishing a framework for Community action in the field of water policy.* Official Journal of the European Communities.
- Wong, MT., Mino, T., Seviour, R.J., Onuki, M., Liu, WT. 2005. In situ identification and characterization of the microbial community structure of full-scale enhanced biological phosphorus removal plants in Japan. *Water Res.* 39 (13): 2901-2914.
- Z**eng, R.J., Yuan, Z., Keller, J. 2003a. Model-Based analysis of anaerobic acetate uptake by a mixed culture of Polyphosphate-Accumulating and Glycogen-Accumulating Organisms. *Biotechnol. Bioeng.* 83 (3): 293-302.
- Zeng, R.J., Lemaire, R., Yuan, Z., Keller, J. 2003b Simultaneous Nitrification, Denitrification, and Phosphorus Removal in a Lab-Scale Sequencing Batch Reactor. *Biotechnol. Bioeng.* 84 (2): 170-178.